Aus der veterinär-ambulatorischen Klinik der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. W. Hofmann

Erfahrungen mit der künstlichen Besamung beim Rind

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung
der Doktorwürde der hohen veterinär-medizinischen Fakultät
der Universität Bern

Vorgelegt von
JOSEF BURKI
Tierarzt von Biberist
Sekundärarzt der vet.-amb. Klinik Bern

Bern – Gedruckt bei Eicher & Roth – 1942

Aus der veterinär-ambulatorischen Klinik der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. W. Hofmann

Erfahrungen mit der künstlichen Besamung beim Rind

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung
der Doktorwürde der hohen veterinär-medizinischen Fakultät
der Universität Bern

Vorgelegt von
JOSEF BURKI
Tierarzt von Biberist
Sekundärarzt der vet.-amb. Klinik Bern

Bern – Gedruckt bei Eicher & Roth – 1942

Von der Fakultät auf Antrag von Herrn Prof. Dr. *W. Hofmann* zum Drucke genehmigt.

Bern, den 17. Juli 1941.

Der Dekan:

Prof. Dr. **A. Leuthold.**

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Erfahrungen mit der künstlichen Besamung beim Rind

Einleitung

Die Geschichte der künstlichen Besamung geht bis in das 14. Jahrhundert zurück. Den ersten erfolgreichen Versuch soll ein Araber aus Dafur unternommen haben. Mit dem Sperma eines wertvollen Hengstes von einem feindlichen Stamm soll es ihm gelungen sein, bei einer Stute Trächtigkeit zu erzielen. Im 18. Jahrhundert begann *Jakobi* mit der künstlichen Besamung von Bachforelleneiern. Seine Methode wurde hierauf in der Fischzucht soweit ausgebaut, dass Befruchtungsziffern von 90—100% erreicht werden können. Bei Hündinnen verzeichneten *Spallanzani* und *Rossi* 1780 und 1782 die ersten positiven Ergebnisse. Auch bei der Frau wurden in Frankreich in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts erfolgreiche Versuche durchgeführt.

Grundlegende Studien wurden erst anfangs dieses Jahrhunderts von *Iwanoff* bei Stuten unternommen. Seine günstigen Resultate gaben in Russland den Anlass, die künstliche Besamung im grossen auch bei Rindern, Schafen, Schweinen und Edelpelztieren anzuwenden. Alljährlich werden dort mehrere Millionen Haustiere, vorwiegend Schafe, auf diese Weise trächtig. Gegenwärtig sind hierüber in fast allen Kulturstaaten umfangreiche Studien und praktische Versuche im Gang.

Dem Problem der künstlichen Besamung wird seit einigen Jahren auch auf unserer Klinik grosse Aufmerksamkeit geschenkt. So erhielt ich den Auftrag, diese in unserem Praxisgebiet auszuprobieren.

Die Indikation zur Ausführung der künstlichen Besamung ist eine mehrfache:

Erstens können durch die künstliche Besamung alle Deckinfektionen des Zuchtstieres, wie Knötchen- und Bläschenseuche oder Tuberkulose-, Abortus Bang- und Trichomonadeninfektionen vermieden werden. Es kommt immer wieder vor, dass sich wertvolle Stiere beim Decken infizierter Kühe anstecken und bei jedem neuen Sprung die Krankheiten auf weitere weibliche Tiere und in neue Bestände hinein übertragen. Am verhängnisvollsten sind für unsere Gegend die Trichomonadenübertragungen, namentlich in Viehzuchtgenossenschaften. Einmal damit infizierte Zuchtstiere sind nur sehr schwer oder überhaupt nicht mehr zu heilen.

Zweitens hat sich gezeigt, dass durch die künstliche Besamung oftmals weibliche Tiere wieder trächtig gemacht werden können, die auf natürliche Weise nicht mehr konzipieren wollen. Es handelt sich dabei namentlich um Kühe, die mit einem chronischen Entzündungsprozess in der Scheide und im Gebärmutterhals behaftet sind. Bei jedem Deckakt

muss das Sperma die veränderten Schleimhautpartien passieren und wird dabei mit toxisch wirkenden Substanzen verunreinigt, wodurch die empfindlichen Samenfäden geschädigt werden. Sehr oft ist es schwer, medikamentös oder operativ derartige chronische Schleimhautentzündungen zu beseitigen. Bei künstlichem Einführen kommen die Samenfäden mit den kranken Partien nicht in Berührung, weshalb dann die Trächtigkeit eher eintreten kann.

Drittens ist die künstliche Besamung wertvoll, wenn in Einzelfällen bestimmte Stiere besser ausgenutzt werden sollen. Man kann mit einem Ejakulat mehrere weibliche Tiere besamen und dieses ferner auch auf beliebige Distanzen transportieren. So haben wir beispielsweise während mehrerer Sömmerungen die sich auf der Alp befindlichen Jungrinder eines grösseren Gutsbetriebes mit Erfolg künstlich besamt, wobei die Samenspender ungefähr 45 km von ihnen entfernt standen.

Ferner kommt es etwa auch vor, dass ein Landwirt aus züchterischen Gründen eine Kuh oder ein Jungrind von einem bestimmten, weit entfernten Stier trächtig haben möchte. Um nicht mit seinem Tier dorthin gehen zu müssen, verlangt er die künstliche Besamung, die für ihn viel weniger umständlich ist. Zahlenmässig sind aber solche Fälle nur unbedeutend.

Viertens leistet die künstliche Besamung in Zeiten von Maul- und Klauenseuche grosse Dienste, wenn ganze Gegenden wegen Verschleppungsgefahr mit einem Deckverbot belegt sind. Sobald dieses längere Zeit aufrecht erhalten werden muss, erleiden die Viehbesitzer ohne eigenen Zuchtstier infolge Unträchtigkeit der Tiere durch Ausfall an Milch und Nachzucht empfindlichen Schaden. Durch die künstliche Besamung kann dieser vermieden werden. Während des Seuchenzuges vom Winter 1938/39 haben wir sie deshalb in unverseuchten und durchgeseuchten Beständen oft ausführen müssen. Wir hielten uns im allgemeinen an die Regel, dass unverseuchte weibliche Tiere nur mit Sperma von unverseuchten Stieren besamt wurden. Die Frage ist nämlich nicht abgeklärt, ob nicht unter Umständen nach Durchseuchung das Virus auch im Sperma ausgeschieden wird und so zu Seuchenausbrüchen Anlass geben könnte. Umgekehrt können selbstverständlich durchgeseuchte Rinder mit Sperma von gesunden wie von durchseuchten Stieren besamt werden.

Fünftens hat die künstliche Besamung eine grosse Bedeutung in Ländern mit ungenügender Anzahl guter männlicher Zuchttiere, wie z. B. Russland. Dort ist sie hauptsächlich aus diesem Grund so stark verbreitet.

Dieser Faktor spielt bei uns keine Rolle. Wir besitzen in der Rinderzucht genügend gutes und bestes Zuchtmaterial. Die künstliche Besamung wird sich deshalb in unserem Lande besonders auf die vier ersterwähnten Punkte beschränken.

In den angegebenen Grenzen gehalten, können dadurch die grossen Schäden, die der Land- und Volkswirtschaft jährlich durch die verschiedenen Arten von Unfruchtbarkeit sowie bei Seuchenzeiten erwachsen, auf ein erträgliches Minimum herabgedrückt werden.

Aus Züchterkreisen wird gelegentlich der Einwand gemacht, die durch künstliche Besamung entstandenen Tiere seien nicht vollwertig. Nach den bis heute vorliegenden Beobachtungen sind diese Bedenken vollständig hinfällig. Bis jetzt konnte bei solchen Rindern in bezug auf Entwicklung, Gesundheit und Fruchtbarkeit nie etwas Nachteiliges beobachtet werden. Sie verhalten sich genau gleich wie die durch den natürlichen Deckakt entstandenen Tiere.

Ferner hört man etwa auch Befürchtungen, dass es bei Einführung der künstlichen Besamung weniger Zuchtstiere brauche. Dieser Einwand ist unberechtigt, wenigstens für unsere Verhältnisse. Die Ausführung ist nicht so einfach, dass sie ohne weiteres im grossen angewendet werden kann. Sie erfordert streng keimfreies Arbeiten, gründliche Kenntnisse, manuelle Geschicklichkeit und namentlich auch Zeit. Sie wird sich auch in Zukunft bei uns hauptsächlich auf Einzelfälle erstrecken, die zahlenmässig für den Absatz für Zuchtstiere keine Rolle spielen.

Die Ausführung der künstlichen Besamung beim Rind setzt sich aus den drei folgenden Phasen zusammen:

1. Der Gewinnung des Samens,
2. Dessen Untersuchung und Aufbewahrung und
3. Der eigentlichen Besamung des weiblichen Tieres.

Spermagewinnung

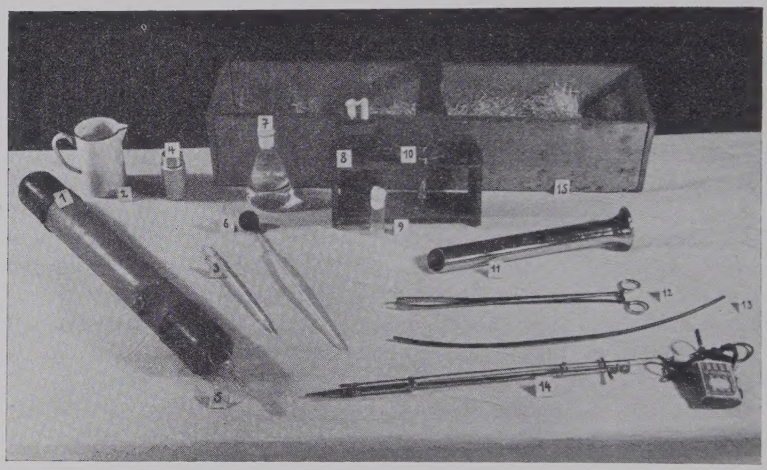
Allgemeines

Für die Gewinnung des Spermas sind in der Literatur eine ganze Reihe von Methoden beschrieben, die bei den einzelnen Haustieren variieren. Wichtig ist in allen Fällen, dass man ein weitgehend reines Sperma bekommt. Dieses muss in bezug auf seine Lebens- und Befruchtungsfähigkeit möglichst den physiologischen Verhältnissen entsprechen. Ferner dürfen die männlichen Tiere durch dessen Gewinnung nicht geschädigt werden.

Das geeignetste Verfahren der Samengewinnung beim Stier ist das mit der in Russland ausgearbeiteten Gummivagina. Diese wird in den Ländern, wo die künstliche Besamung schon seit längerer Zeit durchgeführt wird, fast ausschliesslich angewendet.

Die künstliche Vagina stellt ein doppelwandiges Gummirohr von 60 cm Länge und 7 cm Durchmesser dar, dessen Aussenwand starr ist, während der Innenschlauch aus feinem, elastischem Gummi besteht. Vor dem Gebrauch füllt man in den zwischen beiden Gummihüllen bestehenden Hohlraum Wasser von etwa 50° C. ein und fettet die Oeffnung, die zur Aufnahme des Penis bestimmt ist, mit steriler Vaseline ein. Dadurch werden hinsichtlich Temperatur, Elastizität, Turgor und Gleitbarkeit ganz ähnliche Verhältnisse wie in einer normalen Vagina geschaffen. Der Innenschlauch darf nicht prall gespannt sein, sondern muss beim Kippen

noch gut die Wellenbewegungen des Wassers zeigen. Ferner hat sich er wiesen, dass die Temperatur des eingefüllten Wassers nicht unter 45° C sinken darf, da sonst die Stiere den Sprung gerne verweigern.



Instrumentarium

1. Gummivagina.
2. Gefäss zum Einfüllen des warmen Wassers in die Gummivagina.
3. Thermometer, zum Ablesen der Temperatur des eingefüllten Wassers und des Wasserbades.
4. Gefäss mit steriler Vaseline.
5. Samengläschen, in der Vagina befestigt.
6. Pipette mit Gummiballon, zur Uebertragung des Spermas aus dem Samengläschen in Reagenzröhrchen und zur Verdünnung des Spermas.
7. Erlenmeyerglas mit physiologischer Kochsalzlösung zur Verdünnung des Spermas und zur Vorwärmung der Instrumente.
8. Wasserbad mit Reagenzröhrchen im Holzgestell.
9. Glasgefäss zum Aufsaugen des Spermas in die Rekordspritze.
10. Rekordspritze.
11. Röhrenspekulum.
12. Cervixzange.
13. Hartgummikatheter.
14. Samenspritze mit Beleuchtungsvorrichtung.
15. Holzkiste zur Aufnahme des gesamten Instrumentariums.

In die andere Oeffnung der Gummivagina bringt man ein steriles, graduiertes Glasgefäss zum Auffangen des Spermas und befestigt es mit einer Gummischlaufe, damit es nicht herausfallen kann.

Die Gewinnung des Spermas mit Hilfe der künstlichen Vagina erfolgt auf zwei Arten. Man kann diese in ein eigens zu diesem Zweck konstruiertes Phantom einlegen und dann den Stier springen lassen. Diese Methode wurde ebenfalls in Russland ausgearbeitet und hat auch in andern Ländern Verwendung gefunden. Viele Stiere sollen das Phantom ebenso

gut bespringen wie eine Kuh. Doch wird dieses Verfahren meistens nicht mehr benützt, weil es zu umständlich und kostspielig ist. Einfacher ist die Samengewinnung mit einer brünstigen Kuh.

Für ihr Gelingen ist nach *Hofmann* die Beachtung folgender Punkte wichtig:

1. Die Kuh muss hinten tief gestellt werden, wenn erforderlich in eine künstliche Grube. Ferner muss sie sich ruhig verhalten, damit der Stier beim Sprung nicht seitlich abgleitet.
2. Man muss es beim Einführen des Penis in die künstliche Vagina vermeiden, mit der Hand die Schleimhaut zu berühren. Die meisten Stiere sind gegen solche Berührungen sehr empfindlich. Sie lassen häufig sofort von der Kuh ab und kehren sich mithin drohend gegen den Störenfried.
3. Die künstliche Vagina soll möglichst in der Richtung des Penis gehalten werden. Namentlich ist eine zu starke Haltung nach der Seite zu vermeiden, da sonst der Penis etwas abgeknickt wird und der Stier den Sprung verweigert.
4. Unnötiger Lärm, Aufregungen und müssiges Herumstehen fremder Personen müssen nach Möglichkeit verhindert werden. Einzelne Stiere sind diesbezüglich empfindlich. Sogar weisse Mäntel wirken störend.

Wenn alle Vorbereitungen erfüllt sind, stösst der Stier gewöhnlich kräftig nach und samt in die künstliche Vagina ab.

Heute gilt allgemein diese Art der Samengewinnung bei Zuchtstieren als die einfachste und zuverlässigste. Sie gibt verhältnismässig wenig zu tun und führt bei einiger Uebung meistens zum Ziel. Hat man keine brünstige Kuh zur Verfügung, so lässt sich die Gewinnung auch mit einer nichtbrünstigen ausführen, sobald diese still steht.

Nach dem Gebrauch wird die Gummivagina sofort mit heissem Wasser gereinigt und hierauf mit 65%igem Alkohol durchgespült. Ebenso müssen alle anderen Gegenstände, die gebraucht werden, jedesmal sorgfältig gereinigt werden. Von vorneherein muss man sich bei der künstlichen Besamung der grössten Sauberkeit und Keimfreiheit befleissigen.

Eigene Erfahrungen

Da die künstliche Besamung bei uns noch in den Anfängen steckt und zudem eine erfolgreiche Spermagewinnung für deren praktische Durchführung Hauptbedingung ist, halte ich es für angebracht, auf die hiebei gemachten Beobachtungen noch besonders einzugehen. Manchem Kollegen mögen vielleicht hiedurch gewisse Unannehmlichkeiten und Misserfolge erspart bleiben, wie sie zu Beginn eines jeden neuen Betätigungsfeldes vorkommen können. Solche stellten sich anfänglich auch bei unsern Versuchen ein, da wir uns an keine praktischen Erfahrungen anlehnen konnten.

So gelangen die ersten Versuche, mit der Gummivagina Sperma zu gewinnen, nicht. Der Grund lag darin, dass diese nicht schon einige Zeit vor dem Sprung mit heissem Wasser gefüllt wurde. Geschah dies erst unmittelbar vorher, sank die Temperatur rasch ab, so dass die Gummivagina beim Sprung des Stieres zu wenig reizauslösend wirkte. Nachdem dieses dann korrigiert war, stellten sich die Versager seltener ein.

Bei den ersten Samengewinnungsversuchen floss fast immer ein Teil des Spermas neben das Samengläschen, und zwar in die zu dessen Fixation bestimmte Gummischlaufe, und ging so verloren oder wurde verunreinigt. Die Ursache war folgende: Beide Enden des Aussenrohres sind auf ihrer Innenseite mit einem ungefähr 2—3 cm breiten und 1 cm dicken Schwammring ausgepolstert. Bei der Umstülpung des weichen Innenrohres auf das starre äussere Rohr konnte so eine Faltenbildung nicht vermieden werden, so dass meistens ein Teil des Spermas daneben floss. Ich liess daher an diesem Ende den Schwammring entfernen und durch eine dünne Hartgummischicht ersetzen. Dadurch konnte die Faltenbildung behoben werden. Von da an wurde das Ejakulat immer vollständig und rein gewonnen.

Diese kleine Aenderung der Gummivagina hat den weitern Vorteil, dass hiedurch das Samengläschen einen viel besseren Halt bekommt. Die teure Gummischlaufe wird entbehrlich. Auch bei einem heftigen Nachstoss des Stieres kann das Sammelgläschen nicht fortgeschleudert werden.

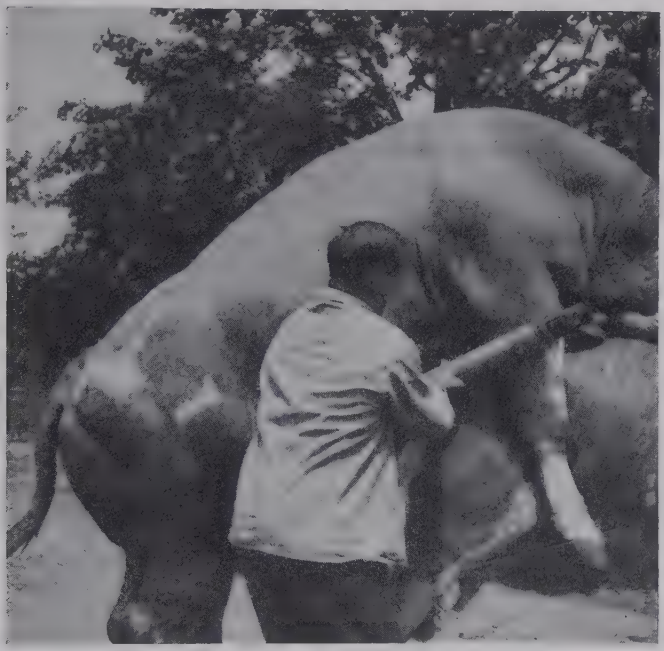
Zur Spermagewinnung gehe ich wie folgt vor: Vor dem Verlassen unserer Klinik wird die Gummivagina mit 95%igem Alkohol durchgespült und ihr Hohlraum mit heissem Wasser gefüllt. Ferner wird die physiologische Kochsalzlösung kurz zum Sieden gebracht und heiss mitgenommen. Diese dient nämlich ausser zur Spermaverdünnung auch dazu, die bei der Besamung mit dem Sperma in Berührung kommenden Instrumente vor dem Gebrauch zu spülen und vorzuwärmen. Dies ist bei kalter Aussentemperatur sehr wesentlich. Die Samenfäden erleiden bei rascher Abkühlung einen Kälteschock, wodurch ihre Befruchtungsfähigkeit vermindert wird.

An Ort und Stelle wird kurz vor dem Sprung die Temperatur des in den Hohlraum der Gummivagina eingefüllten Wassers mit einem Thermometer geprüft. Sie darf nicht unter 50° C. absinken. Die einzufüllende Wassermenge richtet sich nach der Grösse des Stieres, resp. seines Penis. Je grösser derselbe ist, um so weniger Wasser ist notwendig, und umgekehrt. Ist zuviel Wasser eingefüllt, hat der Penis zu wenig Platz. Im allgemeinen ist der ungefähr einen Liter fassende Hohlraum um ein Drittel bis zwei Fünftel zu füllen.

Das andere Ende der Vagina wird 10—15 cm tief mit steriler Vaseline schlüpfrig gemacht. Diese muss aber mit Vorsicht verwendet werden, weil sie sonst bei Vermengung mit dem Sperma auf dasselbe schädlich wirken könnte. Eine Durchspülung der Vagina mit physiologischer Lösung kurz vor dem Sprung unterlasse ich, um zu verhindern, dass Teile davon

ins Sperma gelangen, was besonders bei längerer Aufbewahrung nachteilig auf dessen Lebensdauer wirkt.

Nach diesen Vorbereitungen stelle ich mich auf die rechte Seite des Stieres. Sobald dieser aufspringt, fasst die linke Hand den Schlauch des



Spermagewinnung mit der künstlichen Vagina. Aufspringen und Nachstoss des Stieres

Stieres und dirigiert den Penis in die schräg in der rechten Hand gehaltene Gummivagina ein. Meistens erfolgt rasch Nachstoss und Ejakulation. Hierauf wird sofort die Vagina in der Richtung des Samengläschens gesenkt und das Wasser rasch aus dem Hohlraum abgelassen. Dadurch wird dem Sperma ein schneller und vollständiger Abfluss ins Samengläschen hinein ermöglicht. Wird dies unterlassen, kann es vorkommen, dass trotz Nachstoss und Absamung kein Sperma im Gläschen sich sammelt. Dies hängt damit zusammen, dass das Lumen der Vagina oberhalb des eingeführten Samengläschens durch den Druck des Wassers auf das elastische Innenrohr stark verengt wird und so ein Abfliessen des Spermas nur langsam oder überhaupt nicht möglich ist.

Ferner muss man auch daran denken, dass das Sperma bei einem verzögerten Abfluss aus der Gummivagina bei Temperaturen von über 40° C. geschädigt werden kann. Wird aber das Wasser sofort abgelassen, besteht keine Gefahr.

Wichtig ist auch die Beschaffenheit der für den Penis bestimmten Eingangsöffnung. Diese darf vor allem nicht zu weit und gross sein, ansonst sie dem Stier nicht den zum Absamen nötigen Widerstand bietet. Einem Tierarzt, dem ich die Spermagewinnung an einem Stier mit unserem Instrumentarium zeigte, misslangen seine späteren Versuche, weil die von ihm benutzte Vagina eine zu grosse Eingangsöffnung hatte. Als dann wieder ein Versuch mit unserer Apparatur gemacht wurde, samte der Stier sofort ab.

Die Spermaentnahme soll wenn möglich stets an der gewohnten, dem Stier vertrauten Deckstelle vorgenommen werden. Eine Tieferstellung der Kuh ist hier meistens zum voraus ermöglicht, was besonders für kleinere und jüngere Stiere unerlässlich ist, um ein rücklings Ueberschlagen bei heftigem Nachstoss zu vermeiden.

Die Spermaentnahme soll im allgemeinen nicht unmittelbar auf die Fütterung vorgenommen werden, da vollgefütterte Stiere in der Regel schlechter springen als nüchterne.

Trotzdem ich all diesen, für eine erfolgreiche Samengewinnung wesentlichen Faktoren stets grösste Aufmerksamkeit schenkte, gelang es mir auch nach jahrelanger Uebung nicht immer, mit dieser Methode zum Ziel zu kommen. Unter 70 Stieren, bei denen ich Sperma zu gewinnen versuchte, befanden sich rund 20%, die trotz längerer Bemühungen den Sprung nicht ausführten. Diese sprangen wohl auf die Kuh, stiessen aber trotz Einführung des erigierten Penis in die künstliche Vagina nicht nach. Andere waren bei der Berührung des Schlauches und gegenüber einer Ablenkung des Penis sehr empfindlich und liessen aus diesem Grund rasch wiederum von der Kuh ab.

Meistens gelang auch ein zweiter oder dritter späterer Versuch nicht, bei solchen Tieren mit der Gummivagina Sperma zu erhalten. Dies traf am häufigsten bei jüngeren Stieren zu. Interessant war zu beobachten, wie es Stiere gab, die gerne während dieser Zeit einen unbewachten Augenblick benutzten, rasch die Kuh natürlich zu springen.

Andere Stiere musste ich mehrmals aufspringen lassen, bis schliesslich Nachstoss und Absamung erfolgten. Dabei griff ich oft zu besonderen Ablenkungen, indem z. B. die Kuh während des Aufspringens des Stieres ganz langsam vorwärts bewegt wurde, um ihn so unsicher zu machen, oder indem die Temperatur in der Vagina um 5—10 ° erhöht wurde. Auf diese Weise konnten manche Stiere doch noch zum Absamen gebracht werden.

Beim Grossteil der Stiere gelang jedoch die Samengewinnung mühelos. Abnehmende Decklust oder irgendwelche Schädigung anderer Art konnten nie festgestellt werden. Bei einigen erstklassigen Genossenschaftsstieren wurde sogar jahrelang infolge Trichomonaden- und Maul- und Klauenseuchegefahr dieses Verfahren immer mit Erfolg durchgeführt.

Trotzdem zeigen aber meine Erfahrungen, dass die Spermagewinnung mit der künstlichen Vagina nicht immer einfach und zuverlässig ist, wie dies z. B. die meisten ausländischen Autoren von ihren Rinderrassen be-

haupten können. Es scheint, dass die Simmentalerstiere gegenüber diesem künstlichen Eingriff viel empfindlicher sind.

Um nun bei Stieren, die den Sprung in die Vagina verweigerten, doch Sperma zu erhalten, ging ich schliesslich dazu über, durch Massage der Nebengeschlechtsdrüsen zum Ziel zu kommen.

Diese Methode der Samengewinnung wurde zuerst von zwei Amerikanern, *Miller* und *Everette* näher beschrieben und in Deutschland von *Götze* zum erstenmal ausgeführt. Sie besteht darin, dass per rectum Prostata, Samenblasen und Samenleiterampullen massiert werden, worauf die Stiere in der Regel durch Absamung reagieren.

Beim Einführen der Hand stösst man zuerst auf die an der Peniswurzel und am dorsalen Blasenhals gelegene Prostata, die jedoch nur teilweise palpierbar ist. Beiderseits kranial davon befinden sich die dem Beckenboden aufliegenden und in kaudaler Richtung ausmündenden Samenblasen. In dem spitzen Winkel, den diese zusammen bilden, verlaufen die Samenleiterampullen.

Bleibt also der Sprung in die künstliche Vagina aus, wird der Stier wiederum an seinen Standplatz gebracht. Die rechte Hand wird gut eingeseift oder eingeölt ins Rectum geführt, wo zuerst die Samenblasen vorsichtig von kranial nach caudal massiert werden. Schon nach wenigen Minuten entleert sich deren wässeriger Inhalt tropfen- oder schubweise. Hierauf werden in derselben Weise die Samenleiterampullen bestrichen. Nach kurzer Zeit stellt sich dann der eigentliche Erfolg ein, indem das Sperma aus der Präputialöffnung oder dem oft wenige Zentimeter ausgestossenen, leicht erigierten Penis abtröpfelt, oder seltener auch strahlartig ejakuliert wird. Führt diese Massage noch nicht zum Ziel, so wird auch die Prostata einbezogen, wodurch der Stier etwas mehr gereizt wird. Doch muss diese vorsichtig massiert werden, um nicht gleichzeitig die Harnblase zu reizen und dadurch Harn ins Sperma zu bekommen.

Die Ejakulation des Samens, der makroskopisch an der grauweisslichen Farbe zu erkennen ist, vollzieht sich unter Hochziehen der Hoden und starker Faltenbildung des Skrotums. Zum Auffangen des Spermas muss ein Gehilfe mit einem etwas weitrandigen Gefäss bereitstehen. Das Sperma wird erst von dem Moment an gesammelt, wo auf Grund der weisslichen Farbe bereits auf einen höheren Spermiengehalt geschlossen werden kann. Die Stiere lassen diese Prozedur gerne über sich gehen. Irgend eine Vorsichtsmassnahme hiezu erübrigt sich.

Mit einer einzigen Ausnahme ist es mir bis jetzt in zahlreichen Fällen immer gelungen, auf diese Weise Sperma in genügender Menge zu erhalten. Auch die Qualität ist in der Regel befriedigend und genügt den Anforderungen zu einer sofortigen oder innerhalb kürzerer Zeit zu vollführenden Besamung, wie dies die bisherigen Befruchtungserfolge bewiesen haben.

Feiling überprüfte diese Methode ebenfalls. Er musste aber öfters Schädigungen der Nebengeschlechtsdrüsen durch Blutbeimengung im Sperma feststellen, welches auch häufig zu wenig konzentriert war. Verglichen mit dem Sperma, das er mit der künstlichen Vagina gewann,

trat das Massage-Ejakulat qualitativ fast immer hinter demselben zurück. Auch *Pollmächer* bemängelt dieses Verfahren insofern, als er in der abmassierten Flüssigkeit bei rund 25% der Versuche keine Samenfäden nachweisen konnte. Doch betont auch er, dass die Stiere leichter erregt werden konnten, wenn sie neben einem weiblichen Tier standen.

Die eher ungünstigen Ergebnisse dieser beiden Autoren führe ich besonders darauf zurück, dass sie nur die rectale Massage ausführten. Diese allein ist aber häufig nicht imstande, den Stier genügend zum Absamen zu reizen.

Anders liegen die Verhältnisse bei meinem Vorgehen, wo die Stiere durch den vorausgehenden Versuch, mit der Gummivagina Sperma zu gewinnen, bereits stark angeregt werden. Es bedarf dann im allgemeinen nur noch eines schwächeren, auslösenden Reizes, um eine Absamung herbeizuführen. Starke und langwierige Massagebewegungen sind nicht nötig, weshalb ich auch nie Blut im Sperma beobachten konnte. Eine Präputialspülung unterlasse ich ebenfalls, da die Stiere schon vor der Massage häufig wässerige Sekrete ausstossen, wodurch bereits eine Reinigung des Präputiums eintritt.

Infolge Abgabe dieser Sekrete vor der Massage war das Sperma meistens auch sehr dicht und zeigte noch nach Tagen gute Beweglichkeit. Nach *Feiling* und *Pollmächer* war die Konzentration von durch Massage gewonnenem Sperma gegenüber Ejakulatsamen stets eine geringere. Dies traf aber bei meinen Versuchen meistens nicht zu. Trotz grösserer Mengen konnte ich nach 1—3 Tagen Aufbewahrung ebenso grosse Spermiensedimente feststellen wie beim Ejakulatsperma.

Auf Grund dieser Erfahrungen kann die Massagemethode als brauchbares Hilfsverfahren angesprochen werden und leistet besonders in jenen Fällen gute Dienste, wo die Samengewinnung mit der Gummivagina versagt. In Verbindung mit dieser ist sie gut und leicht durchführbar und kann für die Praxis empfohlen werden. Irgendwelche Nachteile bei gesunden Stieren konnten nie beobachtet werden. Neben der Zeitersparnis bei Stieren, die nur ungern oder überhaupt nicht in die künstliche Vagina absamen, setzt sie uns in die Lage, die verlangte Besamung auch wirklich vornehmen zu können.

Beurteilung des Spermas

Sobald der Stier abgesamt hat, wird das Sperma mit einer Pipette vom Auffanggläschen in ein oder mehrere sterile Reagenzgläser verbracht. Diese werden im Wasserbad mitgenommen und anfänglich bei 30—38° C. gehalten. Die Pipette bietet den Vorteil, dass damit genau dosiert und ein Ueberschütten sowie Verunreinigen des Spermas vermieden werden kann. Befinden sich darin gröbere fremde Beimengungen, wie Eiterflocken oder Schmutzteilchen, wird man beim Aufsaugen sofort darauf aufmerksam,

da solches Sperma die kleine Mündung nur mühsam oder überhaupt nicht passieren kann.

Bei der Beurteilung müssen sowohl makroskopische wie mikroskopische Gesichtspunkte berücksichtigt werden. Die grobsinnliche Beurteilung wird gleich an Ort und Stelle durchgeführt, wobei besonders auf Menge, Farbe, Dichte, Geruch, Konsistenz und sonstige Beschaffenheit geachtet wird. Eine eingehende mikroskopische Ueberprüfung findet meistens erst daheim statt.

Die *Menge* des Stierspermas ist individuell recht verschieden. Sie schwankt bei meinen Versuchen zwischen 1,25 und 11,0 cm³. Bei insge-

Normale Spermien eines Stieres

samt 315 Ejakulaten von 48 Stieren ergab sich ein Durchschnitt von 3,95 cm³, maximal 6,66 und minimal 1,87. Diese Zahlen entsprechen ungefähr jenen anderer Autoren. So fand *Küst* durchschnittlich 2—6, *Olbrycht* 2—8 und russische Autoren 3—6 cm³. Höherliegende Zahlen sind auf andere Gewinnungsmethoden zurückzuführen wie die Entnahme von in Agonie sich befindlichen Stieren, oder die Massagemethode.

Bei mehreren kurze Zeit hintereinander gewonnenen Ejakulaten nimmt die Menge meistens bis und mit dem dritten Sprung zu. In drei Fällen, wo ich sogar ein viertes Ejakulat erhielt, war sie bei zwei Stieren kleiner als jedes vorher entnommene und beim dritten annähernd gleich gross. Verglichen miteinander erhielt ich folgende Durchschnittswerte:

1. Sprung:	3,64	cm^3	(insgesamt	171	Ejakulate)
2. »	3,97	»	»	115	»
3. »	4,78	»	»	26	»
4. »	3,40	»	»	3	»

Aehnliche Werte fand auch *Hatziolos*, der beim ersten Absamen eine durchschnittliche Menge von $3{,}7 \pm 0{,}202$ cm^3 und beim zweiten $3{,}99 \pm 0{,}226$ cm^3 feststellte. Auffällig ist, wie seine Befunde mit den meinen übereinstimmen. Er führt weiter an, dass 50% der Stiere 1½ bis 2 Jahre alt waren, die übrigen 2—3½ Jahre, weshalb seine gefundenen Durchschnittswerte ziemlich niedrig seien. Noch mehr trifft das bei meinem Stiermaterial zu, wo 70% der Stiere nur 13 bis 24 Monate alt waren.

Die *Farbe* eines guten Spermas ist rein weiss oder weiss-graulich bis gelblich. Bei einzelnen Stieren kann sie sogar konstant zitronengelb sein, ohne dass dies auf Verunreinigungen wie Harn, Eiter, Blut oder andere schädliche Substanzen zurückzuführen wäre. Meistens ist das Sperma *geruchlos*, kann aber vereinzelt leicht nach Stier oder Fisch riechen.

Die *Konsistenz* ist rahmartig bis milchig, dazu weist das Sperma eine etwas zähe, fadenziehende und besonders klebrige Beschaffenheit auf. Bei genauer Beobachtung zeigt frisches, gutes Sperma in der Regel ein homogenes, feinkörniges oder feinflockiges Aussehen. Dies deutet stets auf eine gute Spermienkonzentration hin.

Schlechtes Sperma weist eine wässerige oder eine trübe, schmutzig-grüne Farbe auf. Bei zwei Stieren mit Samenblasenentzündung war das Aussehen uneinheitlich; die Flockenbildung war gröber und unregelmässiger als sonst, und setzte sich schon nach kurzer Zeit ab. Hingegen war die Spermiendichte normal.

Wesentlich für die weitere Untersuchung war der Umstand, dass mir hauptsächlich Stiere in voller Zucht zur Verfügung standen, die sich in der Stadt Bern oder deren nächster Umgebung befanden. Zwischen Absamung und mikroskopischer Prüfung im Laboratorium verstrich so in der Regel nur kurze Zeit. Diese betrug ¼—1½ Stunden, je nach Distanz und je nachdem nur eine Spermaentnahme oder im Anschluss daran eine bis mehrere Besamungen durchgeführt werden mussten.

Der Transport des Spermas ins Laboratorium erfolgt im Wasserbad bei einer Temperatur von 20—35° C. Hier wird besonders die Dichte und die Bewegungsintensität, das Verhältnis beweglicher und unbeweglicher Spermien, sowie das Vorkommen pathologischer und unreifer Samenfäden untersucht. Die drei ersten Punkte kann ich im Mikroskop nach Leitz am besten mit Okkular 5 und Objektiv 4 beurteilen; den vierten mit Objektiv 7.

Die *Dichte* wird allgemein mit dem Buchstaben d bezeichnet. Darunter versteht man die in einem Ejakulat vorhandene Spermienkonzentration, so wie sie im Blickfeld des Mikroskops zutage tritt. Es werden drei Grade unterschieden:

Dichtes Sperma = ddd
Mitteldichtes Sperma = dd
Dünnes Sperma = d

Normales Ejakulat weist meistens den ersten Grad auf. Dieser entspricht dem makroskopisch feinflockig aussehenden Sperma.

Etwas schwieriger ist die *Beweglichkeit* der Spermien zu beurteilen, da in einem Ejakulat nie alle Samenfäden denselben Intensitätsgrad besitzen und sich dieser mit der Dauer der Aufbewahrung ändert. In der Literatur existieren hiefür verschiedene Beurteilungsschemata. So unterscheidet *Roemmele* folgende Bewegungsgrade:

1: die Bewegung ist so rasch, dass die einzelnen Spermien kaum zu beobachten sind;
2: einzelne Spermien sind gerade noch zu beobachten;
3: die Bewegung ist ein ruhiges, bedächtiges Einherziehen;
4: die Bewegung ist träge, stockend;
5: es sind nur noch zuckende Bewegungen festzustellen;
6: Stillstand jeglicher Bewegung.

Hiebei wird besonders die qualitative Seite hervorgehoben. In nachfolgendem Schema russischer Autoren kommt mehr die Quantität der beweglichen Samenfäden zur Geltung:

00: Azoospermie, keine Spermien vorhanden;
0: Nekrospermie, nur tote Spermien vorhanden;
1: die unbeweglichen Spermien herrschen vor;
2: die Zahl der unbeweglichen Spermien ist beträchtlich;
3: die meisten Spermien sind beweglich, daneben auch unbewegliche;
4: vorwiegend lebhafte Bewegung, daneben auch Spermien mit guter, oder nur zeitweiser Bewegung;
5: alle Spermien lebhaft beweglich.

Diese beiden Beurteilungssysteme haben aber den Nachteil, dass sie entweder nur die Zahl der beweglichen Spermien angeben oder nur deren Bewegungsgrad. Wohl stellten *Roemmele* und *Weber* fest, dass gewöhnlich die Anzahl der beweglichen Samenfäden der Bewegungsintensität proportional ist. Oefters trifft dies aber nicht zu, weshalb ich mich dem von *Schöttle* aufgestellten Schema anschliesse. Dieser vereinigt darin nebst der Zahl der beweglichen Samenfäden auch deren Bewegungsintensität, die er mit p = progressiv bezeichnet; darunter versteht man eine fortschreitende Bewegung. Diese kann drei Grade aufweisen:

ppp: die Bewegung ist so rasch, dass man die Spermien nur schwer erkennen kann;
pp: die Bewegung ist rasch und die Spermien sind gut erkennbar;
p: die Spermien gleiten langsam einher oder führen stockende Bewegungen aus.

Die Anzahl der beweglichen Samenfäden gibt er mit folgenden Noten an:

5: alle Spermien beweglich;
4: ein sichtbar verschwindend kleiner Teil der Spermien unbeweglich;

3: mehr als die Hälfte der Spermien beweglich;
2: mehr als die Hälfte der Spermien unbeweglich;
1: ganz wenige Spermien bewegungsfähig;
0: alle Spermien unbeweglich.

Da nun auch im frischen Ejakulat stets ein kleiner Prozentsatz unbeweglicher Samenfäden festzustellen ist, wie ich das bei meinen Versuchen beobachtete, bezeichne ich das beste Sperma mit maximal vier Punkten; z. B. 4 ppp ddd. Berücksichtigt man noch die halben Werte, z. B. 2—3 pp—ppp und dd—ddd, so ist eine sehr genaue Beschreibungsmöglichkeit der Bewegung und Dichte gegeben. Frisch gewonnenes Sperma wies meist die Formel 4 ppp ddd auf.

Das Verhältnis der beweglichen zu den unbeweglichen Spermien konnte nur dadurch genauer festgestellt werden, dass ein kleiner Bruchteil des Spermas mit der 10—15fachen Menge physiologischer NaCl-Lösung oder dem Glukose-Sulfat-Verdünner verdünnt wurde. Dies war bei dem allgemein dichten Sperma unerlässlich, wollte man sich keinen Täuschungen hingeben. So bemerkte ich, dass schon im frischen normalen Sperma stets ungefähr 2—5 % unbewegliche Samenfäden vorhanden sind, was als physiologisch zu betrachten ist. Es handelt sich vermutlich um ältere Spermien, die ihre Eigenbewegung bereits eingebüsst haben. Nur vereinzelt konnten darunter sogenannte unreife Spermien beobachtet werden.

Nach *Feiling* sollen oft in Ejakulaten von sehr dichter Spermienkonzentration unmittelbar nach der Gewinnung bis zu 50 % und mehr Samenfäden unbeweglich sein, um erst nach genügendem Luftzutritt gut beweglich zu werden. Obwohl ich dies bei einem Stier, der fast regelmässig sehr dichtes Sperma gab, nachprüfte, konnte ich diese Erscheinung unter physiologischen Bedingungen nie nachweisen. Doch war bei solchem Sperma die Beweglichkeit im allgemeinen etwas schlechter, und auch die Bewegungsdauer stand oft hinter dem weniger dichten Ejakulat zurück.

Sicher ist eine gute Beweglichkeit der Samenfäden ein sehr wichtiges Symptom für ihr Befruchtungsvermögen. In frischem Sperma von einwandfreien Zuchtstieren war sie denn auch die Regel. Auch bei tagelang aufbewahrtem Sperma war die Bewegungsintensität für weitere Besamungen ausschlaggebend. Von verschiedenen Autoren wird zwar behauptet, dass Stiere trotz lebhaft beweglicher Spermien steril sein können. Man darf also nicht ohne weiteres aus dem Bewegungsvermögen der Spermien unbedingt auf ihre Befruchtungsfähigkeit schliessen. Die Richtigkeit dieser Behauptung konnte ich zwar bei frischem Stiersperma mit sonst normalem Befund nie bestätigen. Dass sie aber zu Recht besteht, kann auch daraus geschlossen werden, dass länger konserviertes Sperma trotz guter Beweglichkeit häufig nicht mehr befruchtungsfähig ist. Umgekehrt kann aber auch frisches Sperma trotz völliger Bewegungslosigkeit befruchtungsfähig sein. Dies konnte ich eindeutig bei zwei Ejakulaten eines Stieres beobachten, dem einige Tage zuvor die Klauen stark beschnitten worden waren. Das Sperma zeigte von der ersten Minute der

Gewinnung bis zur tagelangen Aufbewahrung unter den üblichen Bedingungen nie die geringste Beweglichkeit. Trotzdem wurden von fünf benamten Kühen drei trächtig.

Atypische Spermien

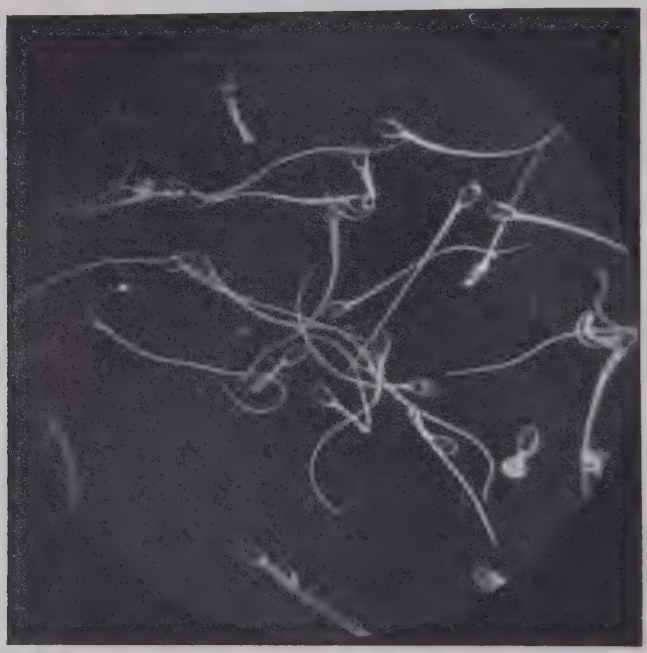
Bei der eingehenden Beurteilung des Spermas muss auch die Morphologie resp. Pathologie der Samenfäden berücksichtigt werden. Verschiedene Forscher haben schon auf ihre Bedeutung hingewiesen und festgestellt, dass nicht nur im Samenerguss kranker, sondern auch in dem gesunder Vatertiere atypische Keimzellen vorkommen. Während *Küst*, *Feiling* und andere Autoren mehr abnorme Schwanzformen beobachteten, sah *Lagerlöf* häufiger Missbildungen des Kopfes.

Meine Erhebungen hierüber nahm ich wie *Feiling* am Nativpräparat vor, indem vorher das Sperma 10—15mal verdünnt wurde. *Lagerlöf* und andere Verfasser führten zudem noch eine Färbung der Spermien am fixierten Präparat durch, wobei sie Samenfäden feststellten, die sich durch schwächere Färbung von den normalen unterschieden. Solche betrachteten sie ebenfalls als pathologisch. *Lagerlöf* führt über diese weiter aus, dass man im allgemeinen leicht feststellen könne, dass diese Zellen tot sind, wenn sie ejakuliert werden. Letzteres kann aber ebenso gut auch am verdünnten Nativpräparat wahrgenommen werden. Gleichzeitig kann auch die Beweglichkeit der pathologischen Spermien beurteilt werden, was ebenfalls von Interesse ist.

Nebst den seltener vorkommenden Riesenspermien, den etwas zahlreicheren Zwergspermien und den nur vereinzelt beobachteten mehrköpfigen und mehrschwänzigen Samenfäden konnte auch ich am häufigsten Schwanzdeformitäten wahrnehmen. Entweder war der Schwanz am Ende aufgerollt und die Spermie meistens unbeweglich, oder er bildete am Ende des Verbindungsstückes eine Schleife, so dass das Schwanzende gegen den Kopf hingelagert war. Diese Missbildung konnte ich am häufigsten feststellen. Solche Spermien waren in der Regel beweglich, jedoch entgegengesetzt der normalen Richtung, d. h. rückwärts. Bei tage-, ja wochenlanger Aufbewahrung wiesen sie oft die längste Lebensdauer auf. Abnorme Köpfe von der Dreieck- bis Kreisform traten gegenüber den Schwanzdeformitäten weniger häufig auf. Lose Köpfe und Schwänze konnte ich dagegen fast in jedem Ejakulat wahrnehmen, wenn meistens auch nur wenige. Darunter konnten vereinzelt kopflose Spermien mit guter Bewegung beobachtet werden. Das würde der Annahme von *Sack* und *Amerbach* entsprechen, dass die Samenzellen in gewissem Grade zwei von einander unabhängige Funktionen besitzen, eine motorische, auf das Verbindungsstück und den Schwanz lokalisierte, und eine germinative, auf den Kopf begrenzte.

Alle diese Missbildungen kommen in bestimmtem Umfang schon physiologisch vor. *Lagerlöf* gibt an, dass sie bei Stieren mit normalem

Befruchtungsvermögen durchschnittlich bis zu 11,7% ausnahmsweise bis 20% auftreten können. *William* und *Savage* stellten mangelhafte Befruchtung fest, wenn unter 1000 normalen Spermien sich mehr als 166 Abnormitäten befanden. Meine Beobachtungen stimmen mit obigen Angaben im allgemeinen überein. Bei allen Ejakulaten konnte eine gewisse



Sperma mit atypischen Formen (aufgerollte und zurückgeschlagene Schwänze)

Zahl pathologischer Spermien nachgewiesen werden; doch überstieg sie nur selten 15%. Meistens betrug sie nur ganz wenige Prozent.

Das Auftreten pathologischer Samenfäden bei sonst gesunden Stieren war öfters abhängig von deren Beanspruchung, d. h. vom Maturitätsgrad des Spermas. Ging der Spermaentnahme keine längere Deckpause voraus und wurden innerhalb weniger Minuten 2—3 Sprünge entnommen, so war die Zahl der atypischen Samenfäden, sowohl beim ersten als auch dritten Ejakulat nicht oder nur unwesentlich verschieden und betrug nur einige Prozent. Bei übermässiger Beanspruchung des Stieres mit 1—2 Sprüngen pro Tag und mehr konnte oft eine Zunahme pathologischer Keimzellen konstatiert werden.

So sah ich bei einem seit Wochen stark beanspruchten Stier besonders solche Missbildungen, wo der Schwanz entweder am Ende oder bis zum Halsstück aufgerollt war. Diese Spermien waren unbeweglich und traten bis zu 10% auf. Das Sperma war aber trotzdem befruchtungsfähig.

Von drei damit besamten Kühen, bei denen eine Konzeption sehr fraglich war, wurden zwei trächtig.

Nach grösseren Deckintervallen, 15 Tage und mehr, konnten häufig 10—15% atypische Spermien festgestellt werden, wobei das zweite oder dritte Ejakulat gegenüber dem ersten oft besser war. Darunter überwogen stets lose Köpfe und Schwänze oder Spermien ohne Schwanzende, aber mit dem Verbindungsstück. Diese Erscheinung wird darauf zurückgeführt, dass bei längerer Retention im Nebenhoden die Samenfäden langsam sich auflösen und sogar resorbiert werden sollen. Wesentlich war die Feststellung, dass solches Sperma trotzdem seine Befruchtungsfähigkeit nicht verliert. Dies konnte ich einige Male nach dreiwöchigem und einmal nach sechswöchigem Sprungintervall bei einem Gehalt an losen Köpfen und Schwänzen von 8—10% beobachten.

Es ist auffällig, dass nach so langer Sprungpause relativ wenig abnorme Spermien anzutreffen sind und das Sperma sich nur wenig verändert hat. Den Grund hierfür sehe ich darin, dass die meisten Stiere häufig onanieren, selbst bei normalem Gebrauch. Dies konnte ich gelegentlich selber beobachten oder wurde mir von den Besitzern und dem Stallpersonal bestätigt. Das war auch bei den vorerwähnten Stieren der Fall. Diese Möglichkeit ist deshalb stets sowohl bei der Spermagewinnung als auch bei der Begutachtung eines Ejakulates nach längeren Sprungintervallen zu berücksichtigen.

Beim näheren Studium der Morphologie begegnet man auch Spermien, die am Anfang oder Ende des Verbindungsstückes ein punktförmiges, ziemlich stark lichtbrechendes Gebilde besitzen, das als Kinoplasmakugel, Protoplasmatropfen und ähnlich bezeichnet wird. Während dieser Protoplasmatropfen im Nebenhoden noch den meisten Samenfäden anhaftet, ist er beim Grossteil der Ejakulatspermien nicht mehr zu finden. Sein Auftreten soll nach *Redenz* und *Roemmele* mit dem Reifungsprozess der Spermien im Nebenhoden zusammenhängen, wo er eine Wanderung vom Hals des Spermiums bis zum Ende seines Verbindungsstückes durchmache. Geringe Schwankungen des osmotischen Druckes können genügen, ihn bei der Ejakulation abzustossen. Diese Protoplasmatropfen können dann als freie rundliche Gebilde sozusagen in jedem frischen Ejakulat wahrgenommen werden, was bereits *Lagerlöf* erwähnt. Allgemein sind sie aber in der Literatur nur wenig beschrieben, obwohl sie zum normalen Bild fast eines jeden Ejakulats gehören. Teils wurden sie offenbar übersehen, teils wird ihnen keine Beachtung geschenkt, oder sie werden als Produkt der Nebengeschlechtsdrüsen angesehen. Dies mag vielleicht darin liegen, dass sie nur im frischen Sperma und zwar besonders an der Peripherie eines Ausstriches zu finden sind, aber innert weniger Stunden nur noch vereinzelt oder gar nicht mehr gesehen werden können. Dass es sich aber um von den Spermien abgestossene Protoplasmatropfen handeln muss, scheint mir dadurch geklärt zu sein, dass ich sie in Ejakulaten von zwei sonst gesunden Stieren mit Azoospermie nicht feststellen konnte, obwohl die Nebengeschlechtsdrüsen ihre Sekrete abgegeben hatten.

Redenz will diesen Tropfen auch nach der Ejakulation an den meisten Samenfäden gesehen haben. *Roemmele* fand aber 90% der Ejakulate fast vollkommen frei davon. Von den übrigen Ejakulaten wiesen ihn nur 1—40% der Spermien auf. Demgegenüber konnte ich ihn bei wenigstens 50% aller Ejakulate, besonders am Ende des Verbindungsstückes, seltener jedoch am Hals beobachten. Die Zahl der damit behafteten Spermien schwankte zwischen wenigen bis 50%. Jenes war die Regel, dieses kam viel seltener vor: so fand ich sie bei 50% der Samenfäden in drei unmittelbar nacheinander gewonnenen Ejakulaten eines sonst wenig benutzten

Spermien mit Kinoplasmakugeln am Ende des Verbindungstückes und solchen, die frei herumschwimmen. (Aus Lagerlöf.)

Stieres, der an einer einseitigen chronischen Klauenerkrankung litt; zu 25% in zwei Ejakulaten eines Stieres mit einseitiger Samenblasenentzündung; ferner zu 60% im ersten und nur zu 3% im zweiten Sprung eines Stieres, der einige Wochen später infolge mittelgradiger Lungentuberkulose geschlachtet wurde, und vorübergehend zu ungefähr 20% bei zwei Stieren mit einer Trichomonadeninfektion und chronischer Lahmheit.

Ueber das Befruchtungsvermögen solcher Ejakulate mit kinoplasmakugelhaltigen Spermien kann bis jetzt kein endgültiges Urteil gefällt werden, da damit Kühe besamt wurden, die wegen Sterilität in Behandlung standen. Von fünf Kühen hatte nur eine konzipiert. Kommen in einem Samenerguss nur sehr wenige Spermien mit einem Protoplasmatropfen vor, so darf dies ebenfalls als physiologisch angesehen werden.

Wie nun aus den erwähnten Beispielen hervorgeht, ist ein zahlreicheres Auftreten von Samenfäden mit einer Kinoplasmakugel ein

Zeichen funktioneller Schwäche oder Störung im Sexualapparat, sei es bedingt durch eine Erkrankung der Geschlechtsorgane selber oder des übrigen Organismus.

Lagerlöf will ein vermehrtes Vorkommen solcher Spermien auch dann gesehen haben, wenn die Stiere in kurzer Zeit zahlreiche Deckakte ausführten. Diese Feststellung konnte ich aber nur selten machen, trotz öfterer Entnahme von drei oder sogar vier Ejakulaten kurz hintereinander. Manchmal war gerade das Gegenteil der Fall. Auch hier scheint das allgemeine Bild durch das Onanieren der Stiere verwischt zu werden.

Dass anderseits die Zahl solcher Spermien in mehreren nacheinander gewonnenen Ejakulaten oft unverändert blieb, ähnlich wie bei den pathologischen Samenfäden, wird wohl damit zu erklären sein, dass im Nebenhoden, im besonderen als Aufbewahrungsorgan, stets eine relativ grosse Menge Keimzellen aufgestapelt ist, so dass sich erst nach einer grösseren Sprungzahl wenige Minuten hintereinander deutlichere Unterschiede ergeben würden.

Spermien, die den Plasmatropfen nach der Ejakulation noch aufweisen, werden als unreife bezeichnet und sind weniger gut beweglich als die übrigen. Dagegen war festzustellen, dass sie bei der Konservierung am längsten beweglich blieben. Mit andern Worten sind solche Spermien weniger reizbar und weniger bewegungsfähig. Ihr Stoffwechsel und ihr Energieverbrauch sind somit herabgesetzt, was anderseits eine Verlängerung der Bewegungsdauer zur Folge hat. *Roemmele* möchte deshalb diesen Tropfen als Regulator der Bewegungsintensität aufgefasst wissen und nennt ihn Kinoplasmakugel, während ihn *Redenz* als Ernährungstropfen ansieht.

Nach meinen Beobachtungen stimme auch ich *Roemmele* zu. Als Ernährungstropfen möchte ich ihn nur soweit ansehen, als er vermutlich nach seiner Abstossung den Spermien als Nährstoff dient und resorbiert wird. Damit hängt wohl auch das ziemlich rasche Verschwinden dieser Gebilde aus dem Sperma zusammen.

Konservierung des Spermas

Ein Ejakulat reicht bei der künstlichen Besamung für mehrere weibliche Tiere aus. Oft kann es aber am Tage der Gewinnung nicht vollständig verwertet werden. Oder es kommt auch vor, dass die beiden Partner weit voneinanderstehen, und so zwischen Spermaentnahme und Besamung einige Zeit verstreicht.

Man war daher von Anfang an bestrebt, für das Sperma geeignete Konservierungsmethoden zu finden, um es möglichst lange lebens- bzw. befruchtungsfähig zu erhalten.

Schon frühzeitig hat man die Bedeutung der Temperatur für die Lebensfähigkeit der Spermien erkannt. Weitgehend von der Temperatur

abhängig ist auch die Beweglichkeit der Samenfäden. Normalerweise leben diese unter Körperwärme bei 38° C., die ihnen die optimalsten Bedingungen für die Bewegung bietet und ihnen die Möglichkeit schafft, die Eizelle in kürzester Zeit zu erreichen.

Die Lebensfähigkeit geht aber mit der Beweglichkeit nicht parallel. Je intensiver die Bewegung ist, um so kürzer wird die Lebensdauer für die Spermien. Schon *Dätwyler* und *Roemmele* haben darauf aufmerksam gemacht, dass jeder Samenfaden über eine gewisse Energiemenge verfügt. Je nach dem Haushalte wird diese nun früher oder später verbraucht.

Für die Ausführung der künstlichen Besamung ist daher die Kenntnis der Temperatureinflüsse auf die Samenfäden von besonderer Wichtigkeit. Niedrige Temperaturen verlangsamen die Bewegungen. Sie verringern damit die Stoffwechselprozesse und verlängern so die Lebensdauer. *Weber* vergleicht diese Erscheinung mit dem herabgesetzten Stoffwechsel der Winterschläfer. Dadurch werden die Energievorräte geschont. Höhere Temperaturen von 25—38° C. bewirken rasche Bewegungen, aber dafür eine kürzere Lebensdauer. Schädlich wirken Wärmegrade über 40° C. wie auch rasche Temperaturschwankungen. Bei 55° C. sterben sie plötzlich ab.

Bei Temperaturverschiebungen muss darauf geachtet werden, dass dies nicht plötzlich geschieht. So konnte ich feststellen, dass die Spermien in frischem Ejakulat, das sofort auf kalte Objektträger gebracht wurde, keine Beweglichkeit zeigten. Wurden diese aber auch nur kurze Zeit auf der warmen Hand aufgewärmt, stellte sich alsbald Beweglichkeit ein. *Milowanoff* spricht daher von einem Temperaturschock des Spermas.

Roemmele und *Weber* fanden bei ihren Versuchen, dass das Ejakulatsperma bei Temperaturen um 0—4 ° C. zwar nicht getötet, aber doch geschädigt wird. *Gellhorn* will noch lebende Spermien nach einer Abkühlung auf minus 45° C. gesehen haben.

Am günstigsten scheinen für die Aufbewahrung Temperaturen von 5—12° C. zu sein. Der beste Aufbewahrungsort ist der Kühlschrank. Da mir aber diese Möglichkeit anfänglich nicht geboten war und eine solche meistens auch dem praktischen Tierarzt fehlen dürfte, habe ich Versuche zur Spermakonservierung im fliessenden kalten Wasser vorgenommen. Diese Art der Konservierung kann überall angewendet werden. Das Leitungswasser hat in Bern eine Durchschnittstemperatur von 10° C. In den kältesten Monaten sank sie auf 7—8° C. In der heissen Jahreszeit stieg sie bis auf 13° C. an.

Das Sperma wurde in mit Wattebauschen verschlossenen, sterilen Reagenzröhrchen aufbewahrt, anfänglich bei diffusem Tageslicht, später dann aber vollständig dunkel.

Es wurden ferner Untersuchungen über den Einfluss von Temperatur und Licht, über das Vorkommen von Bakterien und den Einfluss isotonischer Verdünnungslösungen auf das Sperma vorgenommen.

Die Untersuchungstechnik war kurz folgende:

Die mikroskopische Prüfung des aufbewahrten Spermas wurde bei 218facher Vergrösserung auf sauberem Objektträger mit Deckgläschen ausgeführt. Mit dieser Vergrösserung konnte die Beweglichkeit der einzelnen Spermien, sowie ihre Anzahl ziemlich genau beobachtet und ermittelt werden. Das Sperma wurde dem Reagenzglas mit einer Platinnadel entnommen. Auf diese Weise war es möglich, steril zu arbeiten und stets gleich grosse Ausstriche zu erhalten. Eine einzige Entnahme aus dem Aufbewahrungsröhrchen genügte zur Anfertigung zweier Ausstriche auf demselben Objektträger. Der eine blieb unverdünnt, dem andern wurden zwei Tropfen einer geeigneten Verdünnungslösung zugefügt. Auf diese Weise konnte ich stets den Unterschied von aufbewahrtem Sperma, sowohl im unverdünnten als verdünnten Zustand, sowie den Grad eingetretener Anabiose feststellen. Die Beweglichkeit der Samenfäden bei Körpertemperatur wurde durch langsames Erwärmen des Objektträgers über der Bunsenflamme ermittelt, wobei durch zeitweises kurzes Auflegen auf den Handrücken nach einiger Uebung ziemlich genau die richtige Temperatur getroffen werden konnte. Häufig wurde auch das Wasserbad zu Hilfe gezogen, um bei beliebigen genauesten Wärme- und Verdünnungsgraden Anzahl und Intensität der beweglichen Spermien festzustellen. Die Untersuchung der angelegten Proben wurde einmal täglich, vereinzelt praxishalber oder besonderer Umstände wegen erst jeden zweiten Tag vorgenommen.

Einflüsse von Temperatur und Licht auf das Sperma

Allgemein konnte ich bezüglich der Temperatureinflüsse auf das Sperma ähnliche Beobachtungen wie andere Autoren machen. Es scheint demnach zwischen der Aufbewahrung im Kühlschrank und der im fliessenden Wasser kein wesentlicher Unterschied zu bestehen. Massgebend ist der Temperaturgrad als solcher. Allerdings trocknen kleine Spermaproben im Wasser weniger aus, da das umgebende Milieu feuchter ist.

Die Intensität der Bewegung nimmt in der Regel bei 8—12° C. innert 24 Stunden stark ab. Die Spermien führen nur noch geringe Bewegungen aus. Nach drei Tagen kann meistens nur noch eine minime Beweglichkeit festgestellt werden, die sich bloss auf wenige Spermien erstreckt. Wird aber das Sperma auf Körpertemperatur gebracht, so zeigt es wieder sehr gute Bewegung. Diese kann um so rascher entfacht werden, je kürzer die Aufbewahrungszeit war. Bei längerer Konservierung nimmt dann die Beweglichkeit trotz Aufwärmung allmählich mehr und mehr ab, kann jedoch durch Zugabe einer isotonischen Salz- oder Zuckerlösung wesentlich verbessert werden.

Dieser Zustand der teilweisen oder völligen Bewegungslosigkeit eines Ejakulates, wobei aber die Spermien noch nicht abgestorben sind und durch einen besonderen Eingriff wiederum beweglich werden, wird Anabiose genannt. Wir können zwei Arten von Anabiose unterscheiden:

1. Anabiose, hervorgerufen durch äussere Einflüsse wie niedere Temperaturen usw. = künstliche Anabiose.
2. Anabiose, hervorgerufen durch weitgehenden Verbrauch des den Spermien innewohnenden Energievorrates = natürliche Anabiose.

Die zweite Form tritt viel seltener auf als die erste. Eine solche Anabiose war bei meinen Untersuchungen meistens teilweise vorhanden, aber nur vereinzelt erstreckte sie sich auf alle Spermien gleichzeitig. So ist auch die Tatsache zu erklären, dass in einem Ejakulat fast nie alle Spermien auf einmal absterben, sondern nur sukzessive. Aus dem Auftreten der natürlichen Anabiose lassen sich Schlüsse ziehen für die weitere Lebensdauer des Spermas. Diese ist von diesem Moment an nur noch kurz.

Beim unverdünnten Sperma fand ich bei 170 Ejakulaten bei einer Temperatur von 7—13° C. eine durchschnittliche Lebensdauer von 228 Stunden. Unter Lebensdauer verstehe ich die Zeit vom Moment der Ejakulation bis zu jenem Zeitpunkt, wo in einer Spermaprobe zum letzten Male bewegliche Samenfäden wahrgenommen werden. Die kürzeste Lebensdauer betrug 30 Stunden, die längste 504. Ejakulate bei 7—8° C. gehalten, zeigten längere Lebensdauer als solche bei 11—13° C. Allgemein war auch festzustellen, dass bestimmte Spermaproben fast bis zu ihrem Absterben gute bis sehr gute Beweglichkeit aufwiesen, andere aber von Anfang an nur eine geringe Intensität zeigten. Diese blieben aber häufig auch länger beweglich. Manchmal war auch auffällig, wie ein nur kleiner Prozentsatz von Spermien ein und desselben Sprunges die übrigen Samenfäden bedeutend überlebte.

Im besonderen wären noch Einflüsse von Alter, Konstitution, augenblicklichem Gesundheitszustand, Haltung, Pflege und Fütterung des Tieres, sowie Reifezustand, Art und Zeit der Spermagewinnung auf die Lebensdauer eines Ejakulates hervorzuheben. Doch würde es im Rahmen dieser Arbeit zu weit führen, auf die diesbezüglich gemachten Beobachtungen einzugehen. Sie sind für eine spätere Arbeit vorenthalten.

Was aber noch besonders interessieren dürfte, ist die Frage, ob ein Unterschied in der Lebensdauer mehrerer kurz hintereinander gewonnener Ejakulate besteht. Im ganzen habe ich 47mal je zwei- und fünfmal je drei kurz nacheinander erhaltene Sprünge darauf geprüft. In Frage kamen nur solche Ejakulate, bei denen der Stier jedesmal normal gesprungen und auch abgesamt hatte. Aufbewahrung und Untersuchung erfolgten unter denselben Bedingungen.

Im allgemeinen herrscht die Ansicht vor, dass erst der zweite oder dritte Sprung eines Stieres das beste Ejakulat liefere, was aber nach meinen Beobachtungen nicht immer zutrifft. So gab ein Stier mit einer chronischen Lahmheit mehrmals im ersten Ejakulat besseres Sperma als bei den kurz darauffolgenden Sprüngen. Wahrscheinlich verursachte ihm die Lahmheit beim Sprung Schmerzen, was sich auf die Spermaqualität schädlich auswirkte. Hieher gehören auch deckfaule Stiere, die beim zweiten Sprung sexuell nicht mehr genügend erregt sind.

Der Maturitätsgrad äusserte sich nicht immer eindeutig. So war z. B. nach einer Sprungpause von 15 Tagen das Sperma vom zweiten Sprung nicht immer länger beweglich als das vom ersten. Oefters konnte ich auch beobachten, dass die ersten Spermaproben bei sehr grosser Dichte weniger lang beweglich waren als die nachfolgenden und schon ziemlich früh Anabiose mit anschliessendem Bewegungsstillstand eintrat. Dies konnte auch beim zweiten Ejakulat, wenn auch weniger oft zutreffen.

War in einem der beiden Ejakulate ein hoher Prozentsatz abnormer Spermien vorhanden, so war auch die Lebensdauer entsprechend kürzer. Manchmal konnte überhaupt keine nähere Ursache für das bessere Verhalten eines der beiden Ejakulate gefunden werden.

Zusammenfassend stellte ich im ersten Ejakulat 15mal und im zweiten 26mal längere und bessere Bewegung fest. 10mal bestand kein auffälliger Unterschied. Als durchschnittliche Lebensdauer fand ich bei 52 ersten Ejakulaten 222 Stunden und bei ebensoviel zweiten Ejakulaten 232 Stunden. Von den fünf Ejakulaten von dritten Sprüngen lebten zwei länger als die vom ersten und zweiten Sprung; drei zeigten eine kürzere Lebensdauer.

Wir sehen also, dass sich das zweite Ejakulat durchschnittlich etwas besser konservieren lässt als das erste. Ein grosser Unterschied besteht jedoch nicht, besonders wenn man in Betracht zieht, dass das erste Ejakulat bis zur Gewinnung des zweiten stets etwas länger im warmen Wasserbad aufbewahrt wurde. Für die Praxis darf daraus gefolgert werden, dass im allgemeinen bei gesunden Stieren nach normalem Sprung und bei makroskopisch einwandfreiem Aussehen des Spermas sich eine zweite Entnahme erübrigt. Diese ist angezeigt bei einem längeren Sprungintervall, d. h. 14 Tage und mehr, bei jungen Stieren, die noch wenig gedeckt haben, oder wenn zahlreiche Kühe zu besamen sind. Zwei Spermaproben müssen aber immer bei Stieren gewonnen werden, deren Fruchtbarkeit fraglich ist, sowie bei jenen, die den ersten Sprung nicht befriedigend ausgeführt haben, z. B. wenn das Sperma makroskopisch ein wässeriges Aussehen hat.

Eine kleinere Anzahl Ejakulate wurde auf ihr Verhalten bei Zimmertemperatur, d. h. bei 15—19° C. geprüft. Bei 21 Ejakulaten fand ich eine durchschnittliche Bewegungsdauer von 70 Stunden. Diese wesentlich kürzere Lebensdauer ist auf die viel lebhaftere Beweglichkeit der Spermien während der Aufbewahrung zurückzuführen. In relativ kurzer Zeit wird eine grosse Menge schädlicher Stoffwechselprodukte erzeugt, die ebenfalls einen ungünstigen Einfluss ausüben. So war es auch nicht zu verwundern, dass bei diesen Proben häufiger und früher vollständige natürliche Anabiose eintrat als im fliessenden Wasser bei 7—12° C. Solche Proben zeigten nach Zugabe einer warmen, physiologischen Lösung noch gute bis sehr gute Bewegung, waren aber meistens einen Tag später schon bewegungslos.

Von allen Autoren wird auf die schädliche Wirkung des Sonnenlichtes hingewiesen. Einige Versuche, die ich hierüber anstellte, zeigten,

dass das Sperma, direkt dem Sonnenlicht ausgesetzt, innerhalb ganz weniger Stunden abstirbt. Neben dem Lichteinfluss ist aber auch noch die Wärmestrahlung in Berücksichtigung zu ziehen. Wenn diese nicht ausgeschaltet wird, geht das Sperma wegen der möglichen Ueberhitzung noch viel rascher zugrunde.

Da das Sonnenlicht einen sehr schädlichen Einfluss auf das Sperma auszuüben vermag, schien es mir nicht ausgeschlossen, dass auch diffuses Tageslicht auf längere Zeit konserviertes Sperma nachteilig wirken könnte. Allgemein wird das zwar in der Literatur verneint.

Die Versuche wurden so angelegt, dass von einem Ejakulat gleiche Mengen bei derselben Temperatur, aber bei verschiedener Belichtung, beobachtet wurden. Dem Tageslicht wurde absichtlich von allen Seiten möglichst guter Zutritt verschafft. Je intensiver dasselbe war, um so deutlicher war auch ein Unterschied zu registrieren. Meistens trat ein solcher zwar erst nach einigen Tagen in Erscheinung, indem die Bewegungsintensität und die Anzahl der beweglichen Spermien vereinzelt deutlich herabgesetzt waren. In zwei Fällen konnte sogar nach wenigen Tagen völliger Stillstand festgestellt werden, während die Spermien in den verdunkelt aufbewahrten Proben noch mehrere Tage weiterlebten. Auf Grund dieser Beobachtungen sollte Sperma, das zur längeren Konservierung bestimmt ist, immer dunkel aufbewahrt werden.

Vorkommen von Bakterien im Sperma und ihr Einfluss

Trotz peinlichster Sorgfalt bei der Samengewinnung und Desinfektion der Instrumente konnte ich in vielen Ejakulaten während der Aufbewahrung eine Verunreinigung durch Bakterien feststellen. Diese trat aber erst nach mehreren Tagen und gegen Ende der Aufbewahrungsversuche deutlich in Erscheinung.

Da mich die verschiedenen Bakterienarten sowie die Frage interessierten, inwieweit diese schon im frischen Sperma vorkommen, liess ich 45 Ejakulate kurz nach der Gewinnung besonders darauf untersuchen. Ihre Bestimmung [1]) geschah nach den Färbemethoden *Gram*, *Giemsa* und *Ziehl-Neelsen*. Von 43 Ejakulaten fielen 24 negativ aus. Bei 19 positiven Proben zeigte die Mehrzahl einen sehr spärlichen Befall von Gram-negativen, kurzen, schlanken Stäbchen (Typus Coli). Je zweimal konnten vereinzelte Coccen und Diplococcen, einmal Gram-positive Stäbchen und einmal Staphylococcen nachgewiesen werden. Von zwei kurz nacheinander gewonnenen Ejakulaten war häufiger das erste verunreinigt. Wo bei beiden Ejakulaten Bakterien festgestellt wurden, stammten diese meistens von Stieren, bei denen der zweite Sprung erst nach längerem Probieren erfolgte.

Von den 24 negativ befundenen Samenproben gelangten 21 zur weiteren Aufbewahrung. Während dieser Zeit zeigten acht Proben ebenfalls

[1]) Diese verdanke ich Herrn Dr. Bourgeois, ehemals 1. Assistent am veterinärbakteriologischen Institut der Universität Bern.

nie Bakterien, acht erst vom 7.—11. Tag und bei fünf Proben konnten schon nach 3—5 Tagen solche festgestellt werden. Da ich es aber für unwahrscheinlich halte, dass während der Aufbewahrungsversuche eine nachträgliche Infektion des Spermas hat stattfinden können, ist anzunehmen, dass durch die Färbemethoden zwar weitgehend auch kleinere bakterielle Verunreinigungen im frischen Sperma festgestellt werden können. Um aber solche bei geringstem Befall nachweisen zu können, sollten nach diesen Erfahrungen noch feinere Untersuchungsmethoden wie z. B. das Kulturverfahren in Anwendung kommen. Immerhin geht doch aus diesen Untersuchungen hervor, dass nicht in jeder Samenprobe, selbst bei längerer Aufbewahrung Bakterien beobachtet werden können. Auch bei den in Zimmertemperatur gehaltenen Spermaproben, wo sich die Bakterien viel rascher vermehren, fand ich sie nicht in allen Ejakulaten.

Ein schädlicher Einfluss der Bakterien auf die Spermatozoenvitalität war häufig nicht ersichtlich. Zwei Ejakulate, worin ich 20—21 Tage lang bewegliche Spermien sah, waren schon vom 6. und 8. Tag an deutlich verunreinigt. Von da an konnten aber in beiden noch während 5—6 Tagen eine Beweglichkeit von 2—3 pp und anschliessend eine solche von 1—2 p und 1—2—p festgestellt werden, d. h. die Spermien führten nur noch sehr schwache Bewegungen aus.

Anderseits konnten Proben angetroffen werden, die, obwohl sie keine Bakterien enthielten, nur kurze Lebensdauer zeigten. Vereinzelt schien es auch, als ob die Spermien bei einer bestimmten Bakterienkonzentration leicht gereizt würden, so dass wenigstens vorübergehend ihre Beweglichkeit etwas zunahm. Einige Male konnte ich sogar beobachten, dass bei ihrem sichtbaren Auftreten die natürliche Anabiose aufgehoben wurde, d. h. unbewegliche Spermien zeigten wieder Bewegung.

Demgegenüber hatte ich jedoch auch öfters den Eindruck, dass die Bakterien die Beweglichkeit der Spermien herabsetzen würden.

Meiner Meinung nach hat ein vermehrtes Auftreten von Bakterien eine Aenderung der pH-Konzentration im Sperma zur Folge, wodurch für die Spermien entweder ein günstigeres oder aber auch ein schlechteres Milieu geschaffen wird.

Daraus kann gefolgert werden, dass die in einem Ejakulat vorkommenden Bakterien nicht immer schädlich zu wirken brauchen. Ihrem Vorkommen ist mehr nur sekundäre Bedeutung zuzuschreiben. Dies zeigte sich auch in einem Fall, wo mit einem Sperma, trotz sehr langer Aufbewahrung und deutlicher Bakterienverunreinigung noch Trächtigkeit erzielt werden konnte.

Aehnliche Beobachtungen machte ich auch bei vier Spermaproben mit ziemlich starkem Leukozytengehalt. (Bakteriologischer Befund: zahlreiche polynucleäre Leukozyten, spärliche Lymphozyten, keine nachweisbaren Bakterien.)

Diese stammten von einem jungen Stier mit einseitiger Samenblasenentzündung. Trotzdem sprang der Stier bei zwei Spermaentnahmen je

zweimal hintereinander sehr gut. Stets waren die Leukozyten im ersten Sprung etwas zahlreicher vorhanden und äusserten sich makroskopisch durch gröbere Flockenbildung. Die durchschnittliche Lebensdauer betrug aber gleichwohl 200 Stunden. In allen Samenproben war nur ein kleiner Prozentsatz pathologischer Spermien festzustellen. In beiden ersten Spermaproben konnten zudem 20—25 % unreife Spermien gefunden werden. Vereinzelte Bakterien traten in diesen Ejakulaten schon nach 3–5 Tagen auf, zeigten aber nur sehr geringe Tendenz zur Vermehrung.

Einfluss isotonischer Lösungen auf das Sperma

Da bei aufbewahrtem Sperma schon nach wenigen Tagen eine Abnahme der Beweglichkeit eintritt, wurde von vielen Forschern versucht, durch Zugabe künstlich hergestellter physiologischer Lösungen diese Erscheinung nach Möglichkeit hintanzuhalten. So fand *Dätwyler*, dass sich zur Erhaltung der Spermaaktivität am besten bestimmte Kombinationen von Blutsalzen in physiologischer Konzentration eignen. Die besten Resultate bei Nebenhodenspermien erzielte er mit Ringer-Lösung. Gut bewährte sich auch eine 0,9 %ige NaCl-Lösung. *Roemmele* kommt in einer Gegenüberstellung isotonischer Salz- und Zuckerlösungen zum Ergebnis, dass diese die Bewegungsdauer, jene besonders die Bewegungsintensität erhöhen. *Weber* gibt als bestes Verdünnungsmittel die nach russischen Forschern zusammengesetzte Glukose-Phosphat-Lösung an. Nach *Götze* sollen sich in den russischen Laboratorien die üblichen isotonischen Flüssigkeiten, wie die physiologische NaCl-Lösung, die Ringersche und Lockessche Lösung nicht bewährt haben. An ihrer Stelle wird besonders der Glukose-Phosphat-Verdünner gebraucht, der für die verschiedenen Tiere eine besondere Konzentration hat.

Trotz dieser und vieler anderer künstlicher Lösungen ist es aber bis jetzt noch nicht gelungen, ein Mittel zu finden, durch dessen Beigabe das Sperma wesentlich besser und länger als im unverdünnten Zustand erhalten werden kann. Daneben haben sie auch eine besondere Bedeutung für die eigentliche Besamung des weiblichen Tieres. Sie dienen nämlich dazu, das von Natur aus sehr dichte Stiersperma zu verdünnen. Denn es hat sich gezeigt, dass mit dem verdünnten Sperma eher bessere Erfolge erzielt werden als mit konzentriertem und ferner eine grössere Anzahl von weiblichen Tieren besamt werden kann. In diesen Lösungen haben wir auch ein wirksames Mittel, die künstliche und besonders die natürliche Anabiose der Spermien wiederum aufzuheben.

Auch ich prüfte einige dieser Lösungen. Vor allem interessierte mich die physiologische NaCl-Lösung (0,9 %) sowie der von *Götze* angegebene und von den Russen in neuerer Zeit angewandte Glukose-Sulfat-Verdünner [2]).

[2]) Zusammensetzung: Aq. dest. 1000,0; Na_2SO_4 (wasserfrei) 13,8; Glukose (wasserfrei) 12,0; Pepton (salzfrei) 5,0.

Ferner untersuchte ich noch die in Russland zur Spülung des Besamungsinstrumentariums verwendete Flüssigkeit, da damit zu rechnen ist, dass davon stets kleinere Mengen ins Sperma gelangen. (Sie unterscheidet sich chemisch von der physiologischen NaCl-Lösung nur durch einen Zusatz von 0,5 $NaHCO_3$ auf 1000,0 H_2O).

Bei den Aufbewahrungsversuchen des unverdünnten Spermas dienten diese Lösungen auch dazu, den bestmöglichen Beweglichkeitsgrad nach der Verdünnung und der Aufwärmung festzustellen. Dadurch konnten sowohl die Bewegungsintensität wie die Zahl der beweglichen Spermien um ½—3 Grade verbessert werden. Wesentliche Unterschiede in der Einwirkung dieser drei Lösungen, besonders auf anabiotische Spermien konnte ich bei dieser jeweils nur kurze Zeit dauernden Prüfung nicht wahrnehmen.

Um so auffälligere Resultate ergaben sich aber bei den damit durchgeführten, zur Aufbewahrung bestimmten Verdünnungsversuchen. Diese wurden an 50 Ejakulaten vorgenommen, und zwar so, dass von jedem Ejakulat vier Proben angelegt wurden, eine unverdünnte und je eine mit den genannten Lösungen fünffache Verdünnung. Die Aufbewahrung geschah ebenfalls im fliessenden Wasser.

Schon bei den ersten Versuchen wurde ich auf die relativ günstige Wirkung des Glukose-Sulfat-Verdünners aufmerksam. Darin zeigten die Spermien in den ersten drei Tagen, vereinzelt noch länger, sowohl der Intensität als der Zahl nach ebenso gute Beweglichkeit, als in den unverdünnten Kontrollproben. Oefters war sie sogar besser. Dies war besonders bei stark konzentrierten Ejakulaten der Fall, wo in wenigen Fällen die Verdünnungsanlage längere Beweglichkeit aufwies als das unverdünnte Sperma. Dieser günstige Einfluss des Glukose-Sulfat-Verdünners dauerte aber nur wenige Tage lang, worauf dann die Spermien ziemlich rasch ihre Bewegung einstellten. Dies zeigt, dass diese Lösung auf einen guten Beweglichkeitsgrad mehr konservierend einwirkt. Dieser wird möglichst lang auf einem bestimmten Optimum gehalten, worauf dann die Spermien rasch unbeweglich werden. Die durchschnittliche Lebensdauer betrug darin 111 Stunden.

Etwas längere Bewegung konnte ich bei der physiologischen NaCl-Lösung wahrnehmen. Hier fand ich im Mittel 134 Stunden. Dennoch ist sie wenigstens in den angegebenen Temperaturgrenzen von 7—13° C. zur Konservierung des Spermas ungeeignet. Zeigte der Sulfat-Verdünner nach zwei Tagen noch die Bewegungsgrade 3—4 ppp (zirka ¼ unbeweglich), so musste das mit der physiologischen NaCl-Lösung verdünnte Sperma mit 2—3 ppp (d. h. 50% unbeweglich) bezeichnet werden. Häufig ergaben sich noch schlechtere Resultate. Es schien, dass ein bestimmter Teil der Spermien gegen diese Lösung bei längerer Aufbewahrung besonders empfindlich ist. Beim noch beweglichen Rest nahm dann der Beweglichkeitsgrad weniger rasch ab als beim Sulfat-Verdünner, so dass ein kleiner Prozentsatz von Spermien noch tagelang eine mittelmässige Bewegung zeigte.

Daraus geht hervor, dass die NaCl-Lösung im Vergleich zum Glukose-Sulfat-Verdünner wesentlich reizauslösender wirken muss, so dass schon nach kurzer Zeit erhöhter Intensität ein grosser Teil der Spermien seine Beweglichkeit einbüsst. Aus diesem Grunde eignet sie sich nicht für eine längere Sperma-Konservierung. Wohl darf sie zu Verdünnungszwecken kurz vor der Besamung benutzt werden, da sie auf kurze Zeit das Sperma nicht schädigt, sondern ihm einen vermehrten Bewegungsimpuls mit auf den Weg gibt, der für die Vornahme der eigentlichen Besamung erwünscht ist.

Als ähnlich, aber noch ungünstiger erwies sich die von den Russen angewandte Spülflüssigkeit. Bei ihr fand ich dieselbe durchschnittliche Bewegungsdauer wie beim Sulfat-Verdünner. Die Beweglichkeit musste aber schon nach 1—2 Tagen als schlecht bezeichnet werden. Dies wird vor allem auf die ziemlich hohe Alkaleszenz dieser Lösung infolge Zugabe von $NaHCO_3$ zurückzuführen sein, während die pH-Werte der beiden übrigen Lösungen demjenigen eines guten Ejakulates fast gleichkommen. Diese Lösung sollte deshalb zur Spülung der Besamungsinstrumente nicht verwendet werden. Als solche dürfte eher die physiologische NaCl-Lösung benutzt werden. Doch sollte auch bei ihr darauf geachtet werden, dass möglichst nur kleine Mengen ins Sperma gelangen, das zu längerer Konservierung bestimmt ist. Am besten würde sich für Spülungen der Instrumente der Sulfat-Verdünner eignen. Doch möchte ich auf seine ziemlich komplizierte Zusammensetzung hinweisen. Zudem ist diese wie die $NaHCO_3$-haltige Lösung unbeständig und darf nur im frischen Zustand verwendet werden.

Während der Konservierung der Verdünnungsproben beobachtete ich, dass schon nach zirka 12 Stunden ein deutlicher Bodensatz von Spermien auftrat, während ein kleinerer Teil noch etwas länger in Suspension blieb. Diese Erscheinung trat bei allen drei Verdünnungsflüssigkeiten ungefähr gleichzeitig auf.

In der Annahme, dass bei einer Verhinderung der Sedimentierung eventuell eine längere Beweglichkeit der Spermien erzielt werden könnte, schüttelte ich eine Anzahl solcher Spermaproben täglich zweimal leicht auf, unter gleichzeitiger Anlegung von Kontrollproben. Doch konnte ich dabei nur in wenigen Fällen eine längere Lebensdauer der Spermien konstatieren. Häufiger war das Gegenteil der Fall, was sich am deutlichsten in der russischen Verdünnungslösung mit $NaHCO_3$ zeigte. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, dass infolge besserer Durchmischung die Verdünnungsmedien um so kräftiger auf die Spermien einwirken können. Die rasche Sedimentierung sehe ich weniger als eine Folge schnell absterbender oder anabiotischer Spermien an, als vielmehr als eine rein physikalische, infolge der Verdünnung eingetretene Erscheinung.

Aus diesen Versuchen sowie den Befunden anderer Verfasser sehen wir, dass solch künstlich hergestellte Lösungen bis jetzt ihrer hauptsächlichsten Bestimmung, das Sperma besonders lange lebens- und be-

fruchtungsfähig zu erhalten, noch nicht genügen. Wir müssen uns daher bis zu einer besseren Lösung dieses Problems damit begnügen, das Sperma unverdünnt aufzubewahren.

Besamung

Die praktische Durchführung der eigentlichen Besamung des weiblichen Tieres ist im allgemeinen einfach. Wir haben bis heute über 600 Rinder künstlich besamt. Doch ist es mir nicht möglich, hier auf alle Fälle einzugehen. Ich werde mich deshalb besonders auf jene Erfahrungen beschränken, die in einer grösseren Viehzuchtgenossenschaft während des Auftretens der Maul- und Klauenseuche gemacht wurden.

Diese Genossenschaft verlangte infolge des aus seuchenpolizeilichen Gründen erlassenen Deckverbotes die Durchführung der künstlichen Besamung. Alle brünstigen weiblichen Tiere konnten auf diese Weise mit einem einzigen Stier besamt werden, ohne dass dieser überbraucht wurde.

Die Organisation war einfach. Die Besitzer meldeten dem Zuchtstierhalter bis mittags die zu belegenden Kühe. Dieser gab dann die Anmeldungen an unsere Klinik weiter. Obwohl die seuchenpolizeilichen Sperrmassnahmen später wieder aufgehoben wurden, wurde doch davon abgesehen, die brünstigen Tiere zu einer bestimmten Zeit beim Stier zusammenkommen zu lassen. Dadurch wollte man einer erneuten Weiterverschleppung der Maul- und Klauenseuche nach Möglichkeit vorbeugen.

Anfänglich wurde eine nymphomane Kuh, die sich im gleichen Gehöft wie der Stier befand, zur Spermaentnahme benutzt, was im allgemeinen keine Schwierigkeiten bot. Doch schien es, dass der Stier vereinzelt zu wenig angeregt wurde, da in einigen Fällen beim ersten Sprung trotz kräftigen Nachstosses kein Sperma oder nur wässeriges Sekret in die künstliche Scheide abgegeben wurde. Deshalb ging ich später dazu über, dem Stier eine brünstige Kuh zuzuführen. Alle anderen Kühe, die am gleichen Tag brünstig waren, wurden an ihrem Standplatz im Stall besamt. Anstoss zu diesem Vorgehen gab auch die infolge des Winters herrschende Kälte.

Verdünnung und Transport des Spermas

Das Sperma wird erst kurz vor der Besamung verdünnt. Pro Tier benützt man je nach dessen Dichte und der Anzahl der zu besamenden Kühe 0,5—1 cm^3 Sperma in 3—5facher Verdünnung. Nötigenfalls genügen aber noch kleinere Mengen. In einem Fall, wo ich mich gezwungen sah, mit einem kleinen Rest von nur 0,3 cm^3 zwei Kühe zu besamen, konzipierten beide. Allerdings sehen es unsere Bauern lieber, wenn möglichst grosse Quantitäten verwendet werden, da sie glauben, die Konzeption sei eine bessere.

Als Verdünnungsmittel wird meist die physiologische NaCl-Lösung benutzt. Obwohl sie zur längeren Spermakonservierung ungeeignet ist, kann sie doch zur Verdünnung kurze Zeit vor der Besamung ohne weiteres angewendet werden. Für ihre Unschädlichkeit zu diesem Zwecke sprechen die guten Befruchtungserfolge. Zudem ist sie billig, einfach zusammengesetzt und monatelang haltbar.

Selbst höhere Konzentrationen dieser Lösung brauchen nicht immer schädlich auf das Befruchtungsvermögen der Spermien zu wirken. Dies sah ich bei Besamungen, wo aus Versehen eine zu konzentrierte Lösung (1,8%) benutzt wurde. Auf ihre Hypertonie wurde ich durch die mikroskopische Nachkontrolle im Anschluss an die Besamung aufmerksam, wo mir auffiel, dass schon nach kurzer Zeit viele Spermien unbeweglich waren. So schöpfte ich in erster Linie Verdacht auf eine fehlerhafte Zusammensetzung der Verdünnungsflüssigkeit und konnte dies durch eine Kontrolle bestätigen.

Obwohl ich bei den damit besamten Kühen keine Konzeption erwartete, wurde doch die Mehrzahl davon trächtig. Darunter befand sich ein Fall, wo das Sperma vier Tage lang aufbewahrt und vor der Besamung mit dieser Lösung verdünnt und aufgewärmt worden war.

Von Sperma, das längere Zeit aufbewahrt wurde und in dem nur noch ungefähr die Hälfte oder noch weniger Spermien beweglich sind, nehme ich nicht etwa die doppelte der sonst üblichen Menge für die Besamung, sondern in der Regel nur 0,4—0,6 cm^3. Dadurch will ich eine stärkere Reizung der Geschlechtswege des besamten weiblichen Tieres durch abgestorbene Spermien und Bakterien möglichst vermeiden. Die damit gemachten Versuche waren gut.

Frischem Sperma wird die Verdünnungslösung körperwarm zugegeben, konserviertem, gekühltem Sperma aber ungefähr in derselben Temperaturhöhe. Hierauf wird dieses während zirka $\frac{1}{4}$ Stunde langsam im Wasserbad aufgewärmt, im Miskroskop geprüft und dann sofort zur Besamung gebracht. So verstreicht gewöhnlich vom Beginn der Aufwärmung bis zur Injektion etwa eine halbe Stunde. Diese Zeitdauer halte ich für angebracht, um so das Sperma wiederum langsam der Körpertemperatur anzupassen und ihm dadurch vor der Besamung einen natürlichen Stoffwechsel zu ermöglichen. Wenn das zu besamende weibliche Tier weit entfernt ist, wird die Verdünnung erst an Ort und Stelle vorgenommen. Die Beweglichkeit des Spermas wird aber in diesem Fall schon im Laboratorium an Hand eines verdünnten und vorsichtig aufgewärmten Ausstriches geprüft.

Da grosse Distanzen für unsere Verhältnisse in der Regel nicht in Frage kommen, begnüge ich mich zum Transport des Spermas mit einem zirka 3—400 cm^3 fassenden Glasgefäss als Wasserbad. Dieses wird mit einer Stoffhülle umgeben und in einem kleinen Holzgestell mitgeführt. So werden die Spermien nicht nur gegen Sonneneinwirkung und allzu schnelle Temperaturunterschiede geschützt, sondern es können auch stärkere Schüttelbewegungen sowie ein Umstürzen des Wasserbades vermieden werden.

Gegen kleinere traumatische Einwirkungen ist das Sperma nur sehr wenig empfindlich, wie ich in mehreren Versuchen feststellen konnte. Dies ist wohl dadurch erklärlich, dass die Spermien in den sie umgebenden Sekreten der Geschlechts- und Nebengeschlechtsdrüsen einen Schutz besitzen, der imstande ist, sie weitgehend vor solchen Schädigungen zu bewahren.

Die gewünschte Temperatur des Wasserbades liess sich auf kleinere Entfernungen leicht einhalten. Ist das Sperma zur Konservierung bestimmt, muss während der heissen Jahreszeit darauf geachtet werden, dass zwischen der Entnahme desselben und der Aufbewahrung im Laboratorium nur kurze Zeit verstreicht, da es sonst infolge längerer Wärmeeinwirkung geschädigt wird.

Zeitpunkt der Besamung

Nach *Küst* wird die künstliche Besamung am besten auf der Höhe der Brunst ausgeführt. *Götze* führt aus, dass dieselbe nach den russischen Angaben möglichst in der zweiten Hälfte der Brunst vorgenommen werde, weil dann die Befruchtung erfahrungsgemäss sicherer sei.

Bei der Ausführung der Besamungen schenkte ich dem Zeitpunkt ihrer Vornahme ebenfalls Beachtung. Jedesmal erkundigte ich mich nach dem Auftreten der ersten Brunsterscheinungen und in vielen Fällen auch nach deren Abklingen. Häufig waren die Tiere über Nacht, weniger oft schon am Vorabend stierig geworden und zeigten dann am folgenden Morgen deutliche Brunstsymptome. Diese waren meistens am Abend des gleichen Tages im Abklingen begriffen oder schon verschwunden.

Die Ausführung der Besamung wurde gewöhnlich auf den Nachmittag verlegt, wo die meisten Tiere noch brünstig waren. In 18 Fällen jedoch konnten äussere Brunsterscheinungen nur noch sehr undeutlich oder gar nicht mehr wahrgenommen werden. Davon wurden dennoch 14 Tiere oder 77,7% trächtig. Von 59 mehr gegen das Ende der Brunst besamten Tieren konzipierten 43 Tiere oder 72,8% und schliesslich von 29 in einem früheren Brunststadium gedeckten, dabei einige ganz zu Beginn der Brunst, wurden 17 oder 58,6% tragend.

Das zeigt, dass die künstliche Besamung, gegen Ende der Brunst ausgeführt, durchschnittlich bessere Erfolge verspricht als im Anfangsstadium. Sie kann selbst dann noch mit gutem Erfolg ausgeführt werden, wenn die Brunstsymptome schon abgeklungen sind und der natürliche Deckakt infolge nicht mehr «Wartens» der Kuh kaum oder gar nicht mehr möglich ist.

Bei den Kühen und Rindern, die nicht mehr brünstig waren, handelte es sich in der Mehrzahl um solche Tiere, die an einem Sonntag rindrig waren und erst Montags belegt wurden. Unter den positiven Fällen befinden sich sogar einige, die am Montag morgen nicht mehr brünstig waren, umständehalber aber erst nachmittags belegt werden konnten.

Einen günstigen Faktor für die guten Besamungserfolge trotz abklingender oder schon abgeklungener Brunst sehe ich auch darin, dass das Sperma mit dem Hartgummi-Katheter stets ziemlich tief in die Cervix deponiert wird und so die Spermien von da eher zum Ei gelangen können.

Diese Erfahrungen zeigen also, dass einem für die künstliche Besamung sozusagen die ganze Brunstzeit zur Verfügung steht, selbst noch mehrere Stunden darüber hinaus. In der zweiten Hälfte und besonders gegen Ende der Brunst ausgeführt, sind die Befruchtungsergebnisse am besten.

Injektion des Spermas

Zur Ausführung der eigentlichen künstlichen Besamung, d. h. zur Einbringung des verdünnten Spermas in den weiblichen Geschlechtsapparat, stehen uns zwei Methoden zur Verfügung. *Küst* und andere verwenden ein Röhren-Spekulum, durch das eine mit einer Beleuchtungsvorrichtung versehene Samenspritze bis zur Cervix eingeschoben wird. Diese Art der Besamung wird als die einfachste, schnellste und deshalb auch

Besamung mit dem Katheter

zweckmässigste bezeichnet. Ich wandte sie ebenfalls an, doch schien mir die Verwendung eines Hartgummikatheters ebenso gut und in vielen Fällen eher zuverlässiger zu sein.

Nachdem die Vulva mit Wasser und etwas Seife gereinigt ist, führt man nach der Adspektion der Scheidenschleimhaut die leicht angefeuchtete,

möglichst seifenfreie Hand in die Scheide ein, untersucht dieselbe sowie den Muttermund und zieht die Hand wieder unter Mitnahme von etwas Brunstschleim heraus. Diesen kann man im durchfallenden Licht besser beurteilen, als bei der Beleuchtung der Scheide mit einer künstlichen Lichtquelle. Ist der Schleim wasserklar oder zeigt er nur leichtere Trü-

Einführen des Spermas mit der Besamungsspritze und einem Röhrenspekulum

bungen, wird zur Besamung geschritten. Ist er dagegen stark getrübt oder gar eiterig, so hat eine Besamung keine Aussicht auf Erfolg.

Eine rektale Untersuchung wird am besten unterlassen, um nicht den Ovulationsprozess zu stören.

Als Instrumente benötige ich die Cervixzange, einen Hartgummikatheter von etwa 60 cm Länge und 3—4 mm Durchmesser, eine kleine Rekordspritze sowie ein Röhrenspekulum. Nach Durchspülen und Aufwärmen von Katheter und Rekordspritze mit blutwarmer physiologischer NaCl-Lösung wird das Sperma aus dem Reagenzglas in ein sauberes Gläschen gegossen, in die Rekordspritze aufgesogen und von einem Gehilfen bereit gehalten. Hierauf führe ich sofort die Cervixzange mit der mit etwas Scheidenschleim schlüpferig gemachten Hand in die Vagina ein, erfasse die Cervix und strecke sie leicht, um mit dem Katheter genügend tief und sicher in sie eindringen zu können. Zudem kann auf diese Weise auch ihre Durchgängigkeit geprüft werden. Hierauf wird das Sperma etwa in deren Mitte deponiert. Dem Hohlraum des Katheters Rechnung tragend, wird derselbe anschliessend mit ein bis zwei Spritzen Luft be-

schickt. Dadurch wird vermieden, dass darin auch nur kleinere Spermamengen haften bleiben.

Wird das Röhrenspekulum verwendet, wie etwa bei Jungrindern, so kann der Muttermund nicht fixiert werden. Dies hat den Nachteil, dass man das Sperma weniger tief in den Cervicalkanal einführen kann und so häufig ein grosser Teil wieder zurückfliesst. Beim normalen Deckakt kommt allerdings das Sperma auch nur zufällig in die Cervix. Aber die künstliche Besamung muss öfters gerade infolge Erkrankungen von Scheide und Muttermund vorgenommen werden, wo ein gutes Einführen des Spermas besonders wichtig ist.

In unserer Gegend ist zudem bei vielen Viehbesitzern die Gewohnheit verbreitet, die Tiere am Tage der Brunst vor dem Deckenlassen zu spülen. Oft werden hiezu stark reizende Mittel wie Soda, Schmierseife usw. verwendet. Auch in Fällen, wo nach Spülungen eine Trübung des Schleimes vorhanden ist, ist es angezeigt, das Sperma möglichst tief in den Muttermund zu bringen, weil es sonst leicht abgetötet werden kann (Leukocyten, Spermalysine, Bakterientoxine). Bei einigen Rindern, bei denen anfänglich trotz dieses Befundes nicht der Hartgummikatheter benutzt wurde, trat mit grösster Wahrscheinlichkeit aus diesem Grunde keine Konzeption ein. Denn bei der nächsten Brunst, wo keine Spülung vorgenommen wurde, wurden sie trächtig. Deshalb verwende ich auch bei Rindern nur noch den Katheter, besonders bei Cervixentzündungen, starkem Verschluss derselben sowie nach Spülungen oder ähnlichen medikamentellen Behandlungen. Die leicht eingeölte Hand lässt sich in der Regel auch bei Jungrindern einführen.

Diese Methode der Besamung ist etwas umständlicher, aber anderseits scheint sie zuverlässiger zu sein als jene mit der Samenspritze.

Befruchtungserfolge mit frischem und konserviertem Sperma

Während dreier Monate wurden in der erwähnten Viehzuchtgenossenschaft 99 Kühe belegt. Die Spermaentnahme fand durchschnittlich nur jeden dritten bis vierten Tag statt, im ganzen 26mal. Je nach der Anzahl der zu besamenden Kühe wurden 1—2 Ejakulate gewonnen. Auch beim zweiten Sprung samte der Stier stets willig und gut ab. Neben der sofortigen Verwendung zur Besamung wurde ein Teil des Spermas zu Untersuchungs- und Aufbewahrungszwecken ins Laboratorium gebracht. Insgesamt wurden von diesem Stier 35 Ejakulate entnommen und damit 118 Besamungen ausgeführt oder durchschnittlich mit einem Ejakulat 3—4 Kühe belegt.

Die künstliche Besamung wurde allgemein von den Viehbesitzern auch in jenen Fällen als aussichtsreich betrachtet, wo nach dem wiederholten, natürlichen Deckakt keine Konzeption eintreten wollte. So wurden Kühe vorgeführt und besamt, die zum vorneherein nicht konzipieren konnten, weil sie an einem chronischen Ovarial- oder Gebärmutterleiden

erkrankt waren. Ein Teil wurde dann ein zweites und drittes Mal besamt, nachdem sie vorher untersucht und behandelt worden waren.

Da sich diese Tiere nicht in unserem Praxiskreis befanden, war mir von vielen die genauere Sterilitätsursache unbekannt. Unter 26 Kühen, die ein zweites und drittes Mal besamt wurden, waren 15, die trotzdem nicht mehr trächtig wurden.

Von den 99 künstlich besamten Tieren wurden 74 trächtig oder 74,74 %. Davon konzipierten 9 erst bei der zweiten und 2 bei der dritten Besamung. Werden die obgenannten 15 Tiere, die schon nach dem klinischen Befund als aussichtslos für eine weitere Trächtigkeit galten, aber auf besondern Wunsch der Besitzer dennoch versuchsweise besamt wurden, in Abzug gebracht, so erhöht sich die Konzeptionsziffer auf 88,09 %. Hierin sind auch die mit konserviertem Sperma trächtig gewordenen Kühe einbezogen. In Berücksichtigung der Tatsache, dass der Genossenschaftsbestand wenige Wochen vorher an Maul- und Klauenseuche erkrankt war, muss das Ergebnis als sehr befriedigend bezeichnet werden.

Von den vorgenommenen Besamungen wurden 44 mit *frischem* Sperma ausgeführt, d. h. mit solchem, das höchstens bis zu einer Stunde aufbewahrt worden war. Davon wurden 29 Tiere trächtig oder 65,9 %. (Der kleinere Prozentsatz ist im Vergleich zum Gesamtergebnis darauf zurückzuführen, dass nur jene Kühe einberechnet sind, die bei der ersten Besamung trächtig wurden.) Die Beweglichkeit der Spermien war während dieser Zeit mit ganz wenigen Ausnahmen nie unter 3 ppp.

Einmal jedoch machten wir bei dem Genossenschaftsstier eine merkwürdige Beobachtung. Bei der mikroskopischen Nachuntersuchung des Spermas im Laboratorium liessen sich im ganzen Ejakulat keine beweglichen Samenfäden finden. Daneben zeigte sonst das Sperma in jeder Beziehung normales Aussehen, d. h. es waren massenhaft Spermien vorhanden, aber alle unbeweglich. Verblüfft über diesen ganz ungewöhnlichen Befund, dachte ich in erster Linie an einen technischen Fehler. In Anbetracht, dass damit an diesem Nachmittag fünf Kühe besamt worden waren und eine Konzeption mit solchem Sperma kaum zu erwarten war, wurde noch am gleichen Abend eine weitere Spermaprobe entnommen, um eine eventuelle zweite Besamung vorzunehmen. Der Stier sprang wieder normal. Die diesmal an Ort und Stelle ausgeführte mikroskopische Untersuchung ergab jedoch denselben Befund, so dass eine Nachbesamung unterblieb.

Obwohl diese zwei Spermaproben tagelang aufbewahrt und immer wieder neue Versuche zur Anregung der Beweglichkeit gemacht wurden, konnte auch nicht an einem einzigen Samenfaden eine Lebensäusserung hervorgerufen werden.

Den Grund für die scheinbare Abiose (Leblosigkeit) vermute ich in folgendem: Etwa zwei Monate nach der Durchseuchung wurden dem Stier die Klauen beschnitten. Im Anschluss daran litt er vorne und hinten an einer Pododermatitis, die sich in einem gespannten Gang äusserte. Beim Sprung, wo das Schwergewicht in der Hauptsache auf den Hinter-

extremitäten ruht, muss der Schmerz ziemlich stark gewesen sein und offenbar Einfluss auf die Spermaqualität gehabt haben. Es schien, dass vor allem die Nebengeschlechtsdrüsen in Mitleidenschaft gezogen worden waren, deren Sekrete für die Beweglichkeit der Spermien von besonderer Bedeutung sind.

Trotz dieses ausserordentlichen Befundes wurden aber doch von den fünf damit besamten Kühen drei trächtig. Von den zwei andern, die

10—12 Wochen alte Kuhkälber
Kalb links und rechts aus frischem Sperma, nach künstlicher Besamung entstanden
Mittleres Kalb durch natürlichen Deckakt hervorgegangen

nicht konzipierten, wurde die eine auch nach späterer künstlicher Besamung nicht mehr trächtig, während die andere infolge Trübung des Brunstschleimes vermutlich an einem Gebärmutterkatarrh gelitten hatte.

Dieser seltene Spermabefund lehrt uns, dass neben der künstlichen und natürlichen Anabiose noch eine dritte Form derselben vorkommen kann, wie sie bis jetzt am Ejakulatsperma nicht beobachtet wurde. Diese möchte ich als *angeborene Anabiose* bezeichnen.

Die hiemit erzielten Befruchtungserfolge zeigen einwandfrei, dass für die Befruchtungsbereitschaft eines Spermas im frischen Zustand die Beweglichkeit nicht immer Hauptbedingung ist. Man muss sich in diesem Fall auch fragen, wie weit der Cervixschleim die Beweglichkeit dieses

bewegungslosen Spermas anzuregen vermochte. Anderseits scheint daraus auch hervorzugehen, dass beim Zustandekommen der Befruchtung der Saugwirkung des Uterus besondere Bedeutung beizumessen ist.

Auch die gute Einführung des Spermas in den Muttermund mag in diesem Falle besonders zum Erfolg beigetragen haben. Eine Kuh, die zwei Tage nach der Klauenbeschneidung des Stieres von demselben natürlich gedeckt wurde, konzipierte nicht. Dieselbe nahm aber drei Wochen

2 Monate altes Kuhkalb,
entstanden aus Sperma, das 72 Stunden konserviert war und natürliche Anabiose aufwies, d. h. das Sperma war nur noch in den üblichen Verdünnungslösungen beweglich

später mit 48 Stunden lang konserviertem Sperma auf, obwohl dieses nur eine Beweglichkeit von 2 pp zeigte, d. h. noch zirka 25 % der Samenfäden gute Vorwärtsbewegung aufwiesen.

Diese angeborene, mit den üblichen Verdünnungsmitteln nicht beeinflussbare Anabiose stellte ich fünf Tage nach der Klauenbeschneidung fest. Ein Ejakulat, das wiederum drei Tage später gewonnen wurde, war unverdünnt immer noch unbeweglich, konnte jedoch durch Verdünnung mit NaCl-Lösung zu einer Beweglichkeit von 2—3 pp gebracht werden. Damit wurden ebenfalls fünf Kühe besamt, wovon wiederum drei trächtig wurden. Aehnlich war der Befund auch noch am zehnten Tag. Bei der nächsten Samenentnahme nach 13 Tagen war dann das Sperma wieder normal.

Ich stellte mir auch die Aufgabe, zu untersuchen, wie lange das Sperma nach der Gewinnung befruchtungsfähig bleibt. Deshalb wurde sogar der grössere Teil der Kühe in dieser Genossenschaft mit konserviertem Sperma besamt. Hiemit verfolgte ich aber auch den Zweck, den Stier möglichst zu schonen.

Von 27 mit 1—24 Stunden altem Sperma vorgenommenen Besamungen fielen 17 positiv aus oder 62,96%.

Mit 24—48stündigem Sperma wurden 23 Kühe belegt, wovon 15 oder 65,21% konzipierten.

13 Kühe wurden nach 48—72stündiger Sperma-Aufbewahrung besamt. Davon wurden 8 oder 61,53% trächtig.

4 Kühe wurden mit 72—96 Stunden altem Sperma belegt, wovon 2 konzipierten (80 und 94 Stunden). Dabei ist bei einer Kuh, die nicht trächtig wurde, das Ergebnis insofern fraglich, als infolge zu rascher Entfernung des Katheters ein grösserer Teil des verdünnten Spermas auf den Boden floss.

2 Kühe wurden mit über vier Tage altem Sperma belegt, d. h. nach 98 und 100stündiger Aufbewahrung. Beide wurden trächtig und kalbten normal ab. Bei dem 100 Stunden sowie bei einem andern, 72 Stunden alten Sperma, die beide Befruchtung hervorriefen, konnte ich die sogenannte natürliche Anabiose beobachten, d. h. die unverdünnten Spermaproben zeigten auch nach der Erwärmung auf Körpertemperatur keine Beweglichkeit mehr. Dieselbe stellte sich erst nach Zufügung von physiologischer NaCl-Lösung ein, und zwar beim 72 Stunden alten Sperma in einer Intensität von 2 pp und beim 100 Stunden alten Sperma in einer Intensität von 3 ppp.

Ausserdem hatte ich noch Gelegenheit, drei Kühe mit wesentlich länger konserviertem Sperma zu besamen, d. h. mit 6½ Tage, mit 8 Tage, 21 Stunden und mit 12½ Tage altem Sperma. Bei letzteren zwei Besamungen waren die Tiere bezüglich ihres Geschlechtsapparates gesund, das andere aber wollte schon nach dem gewöhnlichen Deckakt nicht konzipieren. Diese Kühe wurden nur versuchsweise mit nicht mehr einwandfreiem Sperma besamt. In beiden älteren Spermaproben konnten bereits scheinbar bewegliche Bakterien, besonders Kokken, beobachtet werden. Die am längsten aufbewahrte Samenprobe zeigte eine Beweglichkeit von 1—2 p-pp (zirka 15%); die andere, 8 Tage und 21 Stunden aufbewahrte, 1—2 pp (20—25%).

Die mit dem 8 Tage und 21 Stunden alten Sperma belegte Kuh wurde trächtig; die übrigen zwei konzipierten nicht. Diese Kuh hatte bereits fünfmal normal gekalbt, zuletzt vor vier Monaten. Brünstig war sie seit dem Vortag morgens, war es aber am Tage der Besamung nicht mehr. Diese wurde vormittags um 10 Uhr ausgeführt, wo also das Tier keine Brunstsymptome mehr zeigte. Zur Besamung wurden 0,6 cm^3 Sperma, das bei 9° C. aufbewahrt wurde, verwendet. Die Verdünnung wurde mit 2,0 cm^3 physiologischer NaCl-Lösung vorgenommen, das Sperma während ½ Stunden langsam aufgewärmt und mit dem Hartgummikatheter injiziert.

Diese Kuh warf dann auf 8½ Monate ein Stierkalb. Es war körperlich etwas klein, zeigte aber gute Lebensfähigkeit und Entwicklung, so dass es schon nach drei Wochen voll gemästet auf die Schlachtbank gebracht werden konnte. Ob das zu frühe Abkalben wirklich auf die lange Konservierung des Spermas zurückzuführen ist, ist fraglich. Immerhin zeigt uns dieser aussergewöhnliche Fall, dass konserviertes Sperma trotz

5 Wochen altes Stierkalb, entstanden aus 94 Stunden altem Sperma

bakterieller Verunreinigung sein Befruchtungsvermögen bis 213 Stunden beibehalten kann.

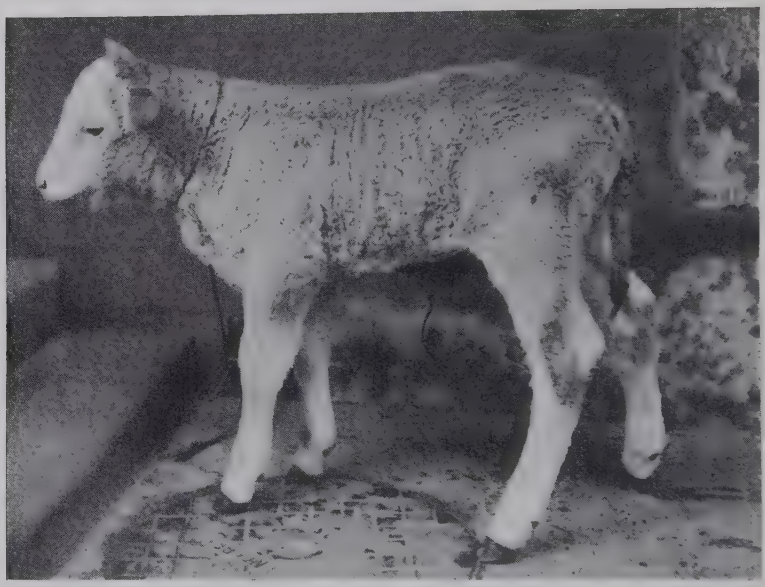
Die Beweglichkeit von längere Zeit konserviertem, aber noch befruchtungsfähigem Sperma war öfters ziemlich herabgesetzt. So konnte ich in einigen Fällen nur 20—30 % bewegliche Samenfäden oder nach dem Beurteilungsschema 2 pp wahrnehmen. Mit andern Worten: Es ist öfters noch eine Befruchtung zu erwarten, wenn zirka ¼ aller Spermien noch deutlich progressive Bewegungen ausführen.

Wichtig für eine mit solchem Sperma vorgenommene Besamung sind folgende Punkte:

1. Es sollen von konserviertem Sperma nicht zu kleine und auch nicht zu grosse Mengen genommen werden; zirka 0,5 cm^3 scheint die geeignete Dosis zu sein.
2. Das Sperma soll nach der Verdünnung langsam aufgewärmt werden; zirka ¼—½ Stunde.

3. Das Sperma muss gut in die Cervix eingeführt werden.
4. Die Kuh soll gegen das Ende der Brunst belegt werden.

Wie obige positiven Resultate zeigen, behält 3—4 Tage lang konserviertes Sperma seine Befruchtungsfähigkeit in mehr als 60% resp. 50% der Fälle bei. Selbst länger konserviertes Sperma, wie nach 98, 100 und



14 Tage altes Stierkalb,
entstanden nach Besamung mit 213 Stunden (oder 8 Tage, 21 Stunden)
konserviertem Sperma

sogar 213stündiger Aufbewahrung, kann vereinzelt noch Befruchtung hervorrufen.

Die Ergebnisse, besonders mit frischem Sperma, wären bestimmt noch besser ausgefallen, wenn schon zu Beginn der Besamung die Kühe, bei denen eine Konzeption von vorneherein fraglich war, davon ausgeschlossen und vorher tierärztlich behandelt worden wären. Immerhin achtete ich hauptsächlich bei den Besamungen mit älterem Sperma stets auf möglichst gesunde Tiere, worauf auch die günstigen Resultate zurückzuführen sein mögen.

Bezüglich Gesundheit, Konstitution und Entwicklung konnten bei den mit altem und frischem Sperma entstandenen Kälbern keine Unterschiede festgestellt werden. Von ihnen wurde ein Grossteil, und zwar männliche wie weibliche prämiert und mit ihnen später als erstklassigem Zuchtmaterial weiter gezüchtet.

Zusammenfassung

1. Seit 1937 werden auf unserer Klinik systematische Versuche über die künstliche Besamung beim Rind durchgeführt. Deren Indikationsstellung ist eine mehrfache, nämlich:
   a. um die Uebertragung ansteckender Krankheiten beim Deckakt zu verhüten;
   b. um dadurch die Unfruchtbarkeit weiblicher und männlicher Tiere erfolgreicher bekämpfen zu können;
   c. um wertvolle Zuchtstiere für Einzelfälle besser auszunützen;
   d. um zu Seuchenzeiten bei einem allgemeinen, aus seuchenpolizeilichen Gründen erlassenen Deckverbot trotzdem die weiblichen Tiere decken zu können.
2. Zur Spermagewinnung wurde die Gummivagina ohne Phantom benutzt. Nach einer kleinen Abänderung konnte mit ihr ein weitgehend reines und vollständiges Ejakulat gewonnen werden. Irgend eine Schädigung der Stiere konnte ich bei rund 300 Spermaentnahmen nie sehen.
3. Unter 70, in voller Zucht stehenden Stieren befanden sich etwa 20%, welche den Sprung resp. Nachstoss in die künstliche Vagina nicht ausführten. Die Stiere waren oft schon gegenüber Berührungen des Schlauches sowie der seitlichen Penisablenkung sehr empfindlich.
4. Bei Stieren, die den Sprung in die künstliche Vagina nicht ausführten, wurde versucht, durch Massage der Nebengeschlechtsdrüsen Sperma zu gewinnen. Als Hilfsmethode liess sich dieses Verfahren unmittelbar im Anschluss an den erfolglosen Versuch, mit der Gummivagina Sperma zu gewinnen, im allgemeinen leicht und ohne Schädigung des Stieres durchführen. Die Besamungserfolge waren mit frischem Massage-Sperma ebenso gut wie mit Ejakulat-Sperma.
5. Das Sperma wurde makroskopisch an Ort und Stelle auf Menge, Farbe, Dichte, Geruch, Konsistenz und sonstige Beschaffenheit beurteilt.
6. Die mikroskopische Untersuchung von frischem Sperma fand bei gesunden Stieren meistens erst im Laboratorium im Anschluss an die Besamung statt. Dabei wurde besonders auf Dichte und Beweglichkeit, auf atypische und unreife Spermien, sowie auf das Vorkommen von Bakterien (siehe Ziffer 14) und deren allfällige Schädigungen geachtet.
7. Normales Sperma bekam mikroskopisch die Formel 4 ppp ddd, d. h. alle Spermien bis auf einen verschwindend kleinen Teil sind beweglich. Die Bewegung ist so rasch, dass man die Spermien nur schwer erkennen kann. Die Spermien-Konzentration ist sehr dicht.

8. In allen Ejakulaten konnten atypische Spermien beobachtet werden. Ein Vorkommen bis zu zirka 15% ist als physiologisch zu betrachten.
9. Ein vermehrtes Auftreten atypischer Spermien ist bei gesunden Stieren teils auf zu lange, teils auf zu kurze Deckpausen zurückzuführen. Der Maturitätsgrad der Spermien tritt in beiden Fällen nicht immer deutlich zutage. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die meisten Stiere selbst bei normalem Gebrauch onanieren.

   In mehreren, kurz nacheinander gewonnenen Ejakulaten konnten meistens keine oder nur geringe Unterschiede in der Zahl pathologischer Samenfäden verzeichnet werden.
10. Bei 50% aller Ejakulate konnten unreife Spermien mit einem Protoplasmatropfen am Ende des Hals- oder Verbindungsstückes festgestellt werden. Meistens war aber in einer Samenprobe nur ein kleiner Prozentsatz solcher Samenfäden vorhanden. War dieser gross, deutete dies in der Regel auf eine funktionelle Störung oder Schwäche des Sexualapparates hin, bedingt durch eine Erkrankung der Geschlechtsorgane selber, oder auch des übrigen Organismus.
11. Bei der mikroskopischen Prüfung konnten in einem Ejakulat fast regelmässig ziemlich zahlreiche, lichtbrechende und rundliche, lose Gebilde wahrgenommen werden. Diese halte ich als von den Spermien während der Ejakulation abgestossene Protoplasmatropfen, die im Nebenhoden den meisten Spermien noch anhaften.
12. Das Sperma wurde in sterilen und mit einem Wattebausch verschlossenen Reagenzgläsern im fliessenden Wasser bei 7—13° C. aufbewahrt. Bei 175 unverdünnten Ejakulaten wurde im Durchschnitt eine Lebensdauer von 228 Stunden gefunden. Wurden kurz nacheinander zwei Ejakulate gewonnen, so war das zweite oft länger beweglich als das erste. Im Mittel bei 52 ersten Ejakulaten 222 Stunden und bei ebenso viel zweiten Ejakulaten 232 Stunden. Wesentliche Unterschiede konnten jedoch im allgemeinen bei gesunden Stieren und normalem Gebrauch nicht gefunden werden.
13. Einen schädlichen Einfluss auf das Sperma hatte besonders das Sonnenlicht. Ebenfalls wirkte bei längerer Aufbewahrung diffuses Tageslicht ungünstig ein, wenn auch in viel geringerem Grade.
14. Im Sperma auftretende Bakterien: Gram-negative Stäbchen (Typus coli), Kokken, Diplokokken, Staphylokokken. Gram-positive Stäbchen scheinen nur einen geringen Einfluss auf das Befruchtungsvermögen auszuüben. Sehr wahrscheinlich wird durch sie die pH-Konzentration etwas geändert. Ihnen ist mehr sekundäre Bedeutung zuzuschreiben.
15. Von den Verdünnungslösungen bewährte sich zur Konservierung des Spermas am besten der Glukose-Sulfat-Verdünner. Er wirkte auf den Bewegungsgrad konservierend ein. Die physiologische NaCl-Lösung (0,9%) schien eine stärkere Reizwirkung auszuüben. Sie eignet sich daher nicht zur Konservierung des Spermas, wohl aber zur Verdünnung desselben kurz vor der Besamung. Am schlechtesten erwies sich

die in Russland besonders zur Vorbehandlung der Instrumente angewandte Spülflüssigkeit. (NaCl-Lösung 0,9 %ig + $NaHCO_3$ ½‰ig.)

16. Die Befruchtungserfolge sowohl mit frischem wie konserviertem Sperma waren gut. Bei 99 infolge Maul- und Klauenseuche durchgeseuchten Kühen und Rindern betrug die Konzeptionsziffer 74,74 %. Dabei erwies sich 213 Stunden lang bei 9° C. konserviertes Sperma noch als befruchtungsfähig. Kühe, am Ende der Brunst besamt, zeigten die besten Erfolge.
17. Zur Besamung wurde das Sperma erst unmittelbar vorher mit physiologischer NaCl-Lösung 3—5mal verdünnt. Konserviertes Sperma wurde ausserdem zirka 30 Minuten lang langsam aufgewärmt.
18. Das Sperma wurde meistens mit dem Hartgummikatheter in den mit der Cervixzange fixierten Muttermund eingeführt. Die Anwendung einer Samenspritze eignet sich nur für Tiere, deren Scheide und Muttermund keine Entzündungsprozesse aufweisen.
19. Bei den Besamungsversuchen zeigte es sich, dass Sperma in natürlicher Anabiose sein Befruchtungsvermögen beibehalten kann.
20. Bei einem Stier, dem zirka zwei Monate nach überstandener Maul- und Klauenseuche die Klauen stark beschnitten worden waren, konnte wenige Tage darauf in zwei Spermaproben auch nach tagelanger Aufbewahrung und zahlreichen Versuchen mit den üblichen Verdünnungslösungen nie die geringste Beweglichkeit beobachtet werden. Trotzdem zeigte das Sperma gute Befruchtungsfähigkeit.
21. Bei den sowohl mit frischem wie konserviertem Sperma durch künstliche Besamung entstandenen Tieren konnte gegenüber den durch den natürlichen Deckakt gezeugten kein Unterschied festgestellt werden.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem verehrten Lehrer und Chef, Herrn Prof. Dr. *Hofmann*, für die Ueberlassung des Themas, für das grosse Interesse, das er meiner Arbeit stets entgegenbrachte, sowie für die Unterstützung in allen Fragen meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Ferner danke ich allen, die mir bei meinen Untersuchungen und der Herausgabe der Arbeit behilflich waren, vor allem Herrn Professor Dr. *Flückiger*, Direktor des Eidg. Veterinäramtes, Herrn Prof. Dr. *Hauser* für seine sorgfältigen photographischen Arbeiten, den Herren Kreistierärzten Dr. *Schmid*, Säriswil, und Dr. *Glur*, Erlenbach i. S., für die Ueberweisung von interessanten Fällen für die künstliche Besamung, Herrn Prof. Dr. *E. Wyssmann*, Neuenegg, und dem Art. Institut Orell Füssli, Zürich, für die bereitwillige Ueberlassung von Clichés.

Literaturauswahl

1. *Bonadonna, T.:* Künstliche Besamung, gegenwärtiger Stand, Bedeutung, Technik. Dtsche Tierärztl. W.schr., Jg. 47, Nr. 34, 1939.
2. Derselbe: La conservazione ed il trasporto dello sperma. Pavia 1939.
3. Derselbe: La fecondazione artificiale in rapporto alla fisiopatologia della spermiogenesi. Milano.
4. Derselbe: La fecondazione artificiale come metodo complementare sanitario e zootecnico. Milano.
5. Derselbe: Scopi e funzione dei « Centri Aziendali » di fecondazione artificiale. Estratto da « L'Azione Veterinaria ». Nr. 15—16, 1940.
6. Derselbe: Manuale di Technica della Fecondazione artificiale degli animali. Milano 1940.
7. Derselbe: Atti della II[e] Adunata Nazionale dei Veterinari per la Fecondazione artificiale. Milano 1940.
8. *Brettschneider, W.:* Biologische Untersuchungen an den Samenzellen des Bullen. J.-D. Leipzig 1936.
9. *Dätwyler, W.:* Ueber die Bewegung der Spermatozoen der Haustiere. J.-D. Zürich 1918.
10. *Dschaparidse, D.:* Die praktische Durchführung der künstlichen Besamung. (Uebersichtsreferat.) Z'schr. f. Züchtungskunde. Bd. 8, S. 403, 1903.
11. Derselbe: Die praktische Durchführung der künstlichen Besamung beim Schaf. Ztschr. f. Züchtungskunde. Bd. 11, H. 12, 1936.
12. *Ellenberger und Scheunert:* Vergleichende Physiologie der Haussäugetiere. 3. Auflage.
13. *Feiling, O.:* Gewinnung und Untersuchung von Samen gesunder und kranker Bullen zum Zwecke der künstlichen Besamung des Rindes. J.-D. Giessen 1935.
14. *Fuchs:* Die Bedeutung der künstlichen Besamung der Rinder für die Bekämpfung der Deckinfektionen. D. T. W. Jg. 43, Nr. 15, S. 230, 1935.
15. *Götze, R.:* Ueber die neuen russischen Methoden der künstlichen Besamung der Haustiere. D. T. W. Jg. 41, S. 801, 1933.
16. Derselbe: Spermagewinnung, Spermaprüfung und künstliche Besamung bei den Haustieren. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1939, Nr. 13 und 17.
17. *Hammond, J. and Asdell S. A.:* The vitality of the spermatozoa in the male and female repructive tracts. Brit. J. of Experimental Biology. Vol. IV, Nr. 2, 1926.
18. *Hatziolos, B.:* Untersuchungen über Konservierung von Bullensperma zum Zwecke der künstlichen Besamung. Ztschr. f. Züchtung B. Bd. 38, H. 2, 1937.
19. *Hofmann, W.:* Ueber die künstliche Besamung des Rindes. Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde Jg. 1938, H. 1, S. 1.
20. Derselbe: Die künstliche Besamung beim Rind in der tierärztlichen Praxis. Schweiz. Arch. f. Tierheilk. Jg. 1939, H. 7/8, S. 317.
21. *Jamane, J. und Kato K.:* Ueber die Wasserstoffionenkonzentration des Spermas beim Pferd und ihr Wirkungsoptimum auf die Vitalität beim Pferd und Kaninchen. Ztschr. f. Züchtungskunde und Züchtungsbiologie. Bd. 12, H. 3, Berlin 1928.
22. *Iwanoff, E.:* Die künstliche Befruchtung der Haustiere. Hannover 1912, zit. n. Weber.
23. *Küst, D.:* Die künstliche Besamung des Rindes. B. T. W. 1936, Nr. 50.
24. Derselbe: Künstliche Besamung des Rindes. Tierärztl. Rundschau, Jg. 45, Nr. 9 u. 10, 1939.

25. *Kusnetzoff, N., Milowanoff, W., Neumann, O., Nagajew, W., Skatkin, P.:* Temperatur- und Lichteinwirkung auf die Lebensfähigkeit der Spermatozoiden. Künstliche Besamung. 179. Moskau 1932 (Russ.). Ref. Züchtungskunde Bd. 9, zit. n. Weber.
26. *Lagerlöf, N.:* Morphologische Untersuchungen über Veränderungen im Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. Upsala 1934.
27. Derselbe: Ein Beitrag zur Sterilität in der Rinderzucht. Ztschr. f. Züchtung, Bd. 32, H. 1, 1935.
28. *Miller, F. W. and Everette, J. E.:* Technic for obtaining spermatozoa for physiological dairy studies and artificial insemination. J. agricult. Research 48, Nr. 10, 1934.
29. *Moskovits, St.:* Neuere Arbeiten über Theorie und Praxis der künstlichen Befruchtung der Haustiere. (Sammelreferat.) Dtsche. Landw. Tierzucht, Jg. 38, Nr. 20, 1934.
30. *Olbrycht, T.:* Die künstliche Besamung — ihr Wert für die Tierzucht. Dtsch. Tierärztl. Wschr. Nr. 22, 1939.
31. *Pirocchi Antonio:* Studi sperimentali sulla fecondazione artificiale. Milano 1915.
32. *Pollmächer, Fr.:* Versuche zur Spermagewinnung bei Bullen durch Massage der Samenleiterampullen. J.-D. Hannover 1936.
33. *Redenz, E.:* 1924, Versuch einer biologischen Morphologie der Nebenhoden, in: Arch. Mikrosk. Anat. u. Entw.-Mech. Vol. 103, H. 3/4, p. 593—618, zit. n. Roemmele.
34. *Richter, J.:* Ueber die Sterilität bei Bullen, B. T. W. Jg. 1932, S. 49 u. 65.
35. Derselbe: Sterilität männlicher Tiere. B. T. W. Jg. 1936, S. 741/748. S. 757—762.
36. Derselbe: Die künstliche Befruchtung bei Haustieren. Leipzig 1935.
37. *Roemmele, O.:* Biologische und physiologische Untersuchungen am Sperma und am Scheidensekret des Rindes, im Hinblick auf die künstliche Besamung. J.-D. München, 1926.
38. *Sack, A., und Amerbach, R.:* Das Verhalten der menschlichen Spermien gegen Farbstoffe in seiner Bedeutung für die Beurteilung der männlichen Sterilität. Münch. med. Wschr. 1930, Bd. 77, S. 400, zit. n. Hatziolos.
39. *Schöttle, R.:* Zur Physiologie des Schafbockspermas (im Hinblick auf die künstliche Besamung). J.-D. Leipzig 1936.
40. *Schwab, A.:* Beitrag zu den Erkrankungen der Geschlechtsorgane des Rindes. J.-D. Bern 1937.
41. Derselbe: Beitrag zur künstlichen Besamung beim Rind. Schweiz. Arch. f. Tierheilk., Jg. 1938, H. 1.
42. *Sciuchetti, A.:* Untersuchungen über die Fruchtbarkeit einiger männlicher Zuchtrinder. Zeitschr. f. Tierzüchtung u. Z.-Biologie, Bd. XLI, H. 2.
43. *Trautmann-Fiebiger:* Histologie und vergleichende mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere. 6. Aufl.
44. *Vollmar, E.:* Missbildungen der Spermatozoen besonders beim Bullen und Hengst. J.-D. Leipzig, 1934.
45. *Weber, H.:* Zur Physiologie des Bullenspermas (im Hinblick auf die künstliche Besamung). J.-D. Leipzig 1936.
46. *Williams und Savage:* Ellenberger und Schütz: Jahresbericht 1927. S. 583, zit. n. Vollmar.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung 3

Spermagewinnung 5

Allgemeines 5

Eigene Erfahrungen 7

Beurteilung des Spermas 12

Atypische Spermien 17

Konservierung des Spermas 21

Einflüsse von Temperatur und Licht auf das Sperma 23

Vorkommen von Bakterien im Sperma und ihr Einfluss 26

Einfluss isotonischer Lösungen auf das Sperma 28

Besamung 31

Verdünnung und Transport des Spermas zur Besamung 31

Zeitpunkt der Besamung 33

Injektion des Spermas 34

Befruchtungserfolge mit frischem und konserviertem Sperma . . 36

Zusammenfassung 43

Literaturauswahl 46

11 Abbildungen